



AVERTISSEMENT

Ce document est le fruit d'un long travail approuvé par le jury de soutenance et mis à disposition de l'ensemble de la communauté universitaire élargie.

Il est soumis à la propriété intellectuelle de l'auteur. Ceci implique une obligation de citation et de référencement lors de l'utilisation de ce document.

D'autre part, toute contrefaçon, plagiat, reproduction illicite encourt une poursuite pénale.

Contact : ddoc-theses-contact@univ-lorraine.fr

LIENS

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 122. 4

Code de la Propriété Intellectuelle. articles L 335.2- L 335.10

http://www.cfcopies.com/V2/leg/leg_droi.php

<http://www.culture.gouv.fr/culture/infos-pratiques/droits/protection.htm>

UNIVERSITE HENRI POINCARÉ - NANCY 1

2009

FACULTE DE PHARMACIE

**Un Vaccin contre le Paludisme : obstacles, espoirs et
avancées**

THESE

Présentée et soutenue publiquement

Le mardi 27 octobre 2009

pour obtenir

le Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie

par **Elodie-Anne STAUDT**
née le 03 août 1984 à Thionville (57)

Membres du Jury

Président : Mme Chantal FINANCE, Professeur de virologie, Faculté de Pharmacie de Nancy.

Juges : Mme Sandrine BANAS, Maître de conférences, Faculté de Pharmacie de Nancy.
Mme Valérie HAMELIN, Docteur en pharmacie, Faculté de Pharmacie de Nancy.
Mr Alain LEFAOU, Professeur de virologie, CHU de Nancy.

UNIVERSITE Henri Poincaré - Nancy 1
FACULTE DE PHARMACIE

DOYEN

Chantal FINANCE

Vice-Doyen

Francine PAULUS

Président du Conseil de la Pédagogie

Pierre LABRUDE

Responsable de la Commission de la Recherche

Jean-Claude BLOCK

Directeur des Etudes

Gérald CATAU

Responsable de la Commission des Relations Internationales

Janine SCHWARTZBROD

Responsable de la Communication

Francine KEDZIEREWICZ

Responsable de la Commission Hygiène Sécurité

Laurent DIEZ

Responsable de la filière Officine :

Gérald CATAU

Responsables de la filière Industrie :

Isabelle LARTAUD

Jean-Bernard REGNOUF de VAINS

Responsable du CEPH :

(Collège d'Enseignement Pharmaceutique Hospitalier)

Jean-Michel SIMON

Doyen Honoraire : Claude VIGNERON

Professeur Emérite : Gérard SIEST

Professeurs Honoraires

Thérèse GIRARD

Michel JACQUE

Lucien LALLOZ

Pierre LECTARD

Vincent LOPPINET

Marcel MIRJOLET

François MORTIER

Maurice PIERFITTE

Louis SCHWARTZBROD

Maîtres de Conférences Honoraires

Marie-Claude FUZELLIER

Françoise HINZELIN

Marie-Andrée IMBS

Marie-Hélène LIVERTOUX

Jean-Louis MONAL

Marie-France POCHON

Anne ROVEL

Maria WELLMAN-ROUSSEAU

Assistante Honoraire

Marie-Catherine BERTHE

ENSEIGNANTS

PROFESSEURS

Gilles AULAGNER	Pharmacie clinique
Alain BAGREL	Biochimie
Jean-Claude BLOCK	Santé publique
Christine CAPDEVILLE-ATKINSON	Pharmacologie cardiovasculaire
Chantal FINANCE	Virologie, Immunologie
Pascale FRIANT-MICHEL	Mathématiques, Physique, Audioprothèse
Marie-Madeleine GALTEAU	Biochimie clinique
Christophe GANTZER	Microbiologie environnementale
Max HENRY	Botanique, Mycologie
Jean-Yves JOUZEAU	Bioanalyse du médicament
Pierre LABRUDE	Physiologie, Orthopédie, Maintien à domicile
Dominique LAURAIN-MATTAR.....	Pharmacognosie
Isabelle LARTAUD.....	Pharmacologie
Pierre LEROY.....	Chimie physique générale
Philippe MAINCENT.....	Pharmacie galénique
Alain MARSURA.....	Chimie thérapeutique
Patrick MENU.....	Physiologie et physiopathologie humaine
Jean-Louis MERLIN.....	Biologie cellulaire oncologique
Alain NICOLAS.....	Chimie analytique
Jean-Bernard REGNOUF de VAINS.....	Chimie thérapeutique
Bertrand RIHN.....	Biochimie, Biologie moléculaire
Jean-Michel SIMON.....	Economie de la santé, Législation pharmaceutique
Claude VIGNERON.....	Hématologie, Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES

Monique ALBERT.....	Bactériologie, Virologie
Sandrine BANAS.....	Parasitologie
Mariette BEAUD.....	Biologie cellulaire
Emmanuelle BENOIT.....	Communication et Santé
Michel BOISBRUN.....	Chimie thérapeutique
Catherine BOITEUX.....	Biophysique, Audioprothèse
François BONNEAUX.....	Chimie thérapeutique
Cédric BOURA.....	Physiologie
Gérald CATAU.....	Pharmacologie
Jean-Claude CHEVIN.....	Chimie générale et minérale
Igor CLAROT.....	Chimie analytique
Jocelyne COLLOMB.....	Parasitologie, Organisation animale
Joël COULON.....	Biochimie
Sébastien DADE.....	Bio-informatique
Dominique DECOLIN.....	Chimie analytique
Béatrice DEMORE.....	Pharmacie clinique
Joël DUCOURNEAU.....	Biophysique, Audioprothèse, Acoustique
Florence DUMARCAY.....	Chimie thérapeutique
François DUPUIS.....	Pharmacologie
Raphaël DUVAL.....	Microbiologie clinique

Béatrice FAIVRE.....	Hématologie
Adel FAIZ.....	Biophysique-accoustique
Luc FERRARI.....	Toxicologie
Stéphane GIBAUD.....	Pharmacie clinique
Françoise HINZELIN.....	Mycologie, Botanique
Thierry HUMBERT.....	Chimie organique
Frédéric JORAND.....	Santé et Environnement
Francine KEDZIEREWICZ.....	Pharmacie galénique
Alexandrine LAMBERT.....	Informatique, Biostatistiques
Brigitte LEININGER-MULLER.....	Biochimie
Faten MEHRI-SOUSSI.....	Hématologie biologique
Christophe MERLIN.....	Microbiologie environnementale et moléculaire
Blandine MOREAU.....	Pharmacognosie
Maxime MOURER.....	Pharmacochimie supramoléculaire
Dominique NOTTER.....	Biologie cellulaire
Francine PAULUS.....	Informatique
Christine PERDICAKIS.....	Chimie organique
Caroline PERRIN-SARRADO.....	Pharmacologie
Virginie PICHON.....	Biophysique
Anne SAPIN.....	Pharmacie galénique
Marie-Paule SAUDER.....	Mycologie, Botanique
Nathalie THILLY.....	Santé publique
Gabriel TROCKLE.....	Pharmacologie
Noëlle VAULTIER.....	Biodiversité végétale et fongique
Mohamed ZAIYOU.....	Biochimie et Biologie moléculaire
Colette ZINUTTI.....	Pharmacie galénique

PROFESSEUR ASSOCIE

Anne MAHEUT-BOSSER.....	Sémiologie
-------------------------	------------

PROFESSEUR AGREGÉ

Christophe COCHAUD.....	Anglais
-------------------------	---------

ASSISTANT

Annie PAVIS.....	Bactériologie
------------------	---------------

SERVICE COMMUN DE DOCUMENTATION DE L'UNIVERSITÉ (SCD)

Anne-Pascale PARRET.....	Directeur
Jeannine GOLEC.....	Responsable de la section Pharmacie Odontologie

SERMENT DES APOTHCAIRES



Je jure, en présence des maîtres de la Faculté, des conseillers de l'ordre des pharmaciens et de mes condisciples :

D' honorer ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine ; en aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses.

Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque.



« LA FACULTE N'ENTEND DONNER AUCUNE
APPROBATION, NI IMPROBATION AUX
OPINIONS EMISES DANS LES THESES, CES
OPINIONS DOIVENT ETRE CONSIDEREES
COMME PROPRES A LEUR AUTEUR ».

REMERCIEMENTS

À Madame Chantal Finance

Doyen de la faculté de pharmacie, professeur de virologie
Pour m'avoir fait l'honneur de présider mon jury
Hommages respectueux

À Madame Sandrine Banas

Maître de conférence, professeur de parasitologie
Qui a accepté de diriger ma thèse
Pour sa disponibilité et sa diligence
Sincères remerciements

À Madame Valérie Hamelin

Docteur en pharmacie
Pour m'avoir guidé tout au long de mon stage
Pour avoir accepté de faire partie de mon jury et pour tout le reste...
Et à Monsieur Jean-Christophe Hamelin
Toute ma gratitude

A Monsieur Alain LEFAOU

Professeur de virologie
Pour avoir accepté de faire partie de mon jury
Merci pour cet honneur

À mes parents

Pour leur présence, leur soutien, pour avoir toujours eu foi en moi
Pour tout ce qu'ils ont fait et feront encore...
Et pour avoir été là dans les moments difficiles et de doute
Merci, merci, merci !

À tous mes amis et plus particulièrement à Vanessa, Thierry et Antoine

Pour avoir cru en moi et pour m'avoir (sup)portée, dans les hauts et les bas...
A ceux qui sont présents et à ceux qui n'ont pu être là,

À tous les enseignants qui m'ont guidé

Pour leur passion qui m'a donné envie de me dépasser,

À Virginie Dosdat

Pour sa patience

À Stéphane, Brigitte et Monique du Lycée Colbert,

Pour leur soutien dans mes cours et les changements d'emploi du temps !
Merci.

SOMMAIRE

INTRODUCTION.	11
1. <u>LE PALUDISME, LE <i>PLASMODIUM FALCIPARUM</i> ET L'ANOPHÈLE.</u>	12
1.1. HISTORIQUE.	12
1.2. EPIDÉMIOLOGIE.	13
1.2.1. RÉPARTITION DANS LE MONDE.	13
1.2.2. CLASSIFICATION DES SITUATIONS ÉPIDÉMIOLOGIQUES.	15
1.3. CAUSES.	16
1.3.1. LE PLASMODIUM, PARASITE DU PALUDISME.	16
1.3.2. L'ANOPHÈLE, VECTEUR DU PALUDISME.	17
1.3.3. CYCLE DU PARASITE CHEZ L'HUMAIN.	18
1.3.3.1. PHASE HÉPATIQUE.	18
1.3.3.2. PHASE SANGUINE.	19
1.3.3.2.1. ULTRASTRUCTURE DU MÉROZOÏTE ET PROCESSUS D'INVASION DE L'ÉRYTHROCYTE :	19
1.3.3.2.2. ULTRASTRUCTURE DES STADES INTRA-ÉRYTHROCYTAIRES ET MODIFICATIONS STRUCTURELLES DE L'ÉRYTHROCYTE INFECTÉ :	21
1.4. SYMPTÔMES.	23
1.5. DIAGNOSTIC.	24
1.5.1. DIAGNOSTIC CLINIQUE.	24
1.5.2. LE DIAGNOSTIC SPÉCIFIQUE.	24
1.6. MANIFESTATIONS CLINIQUES.	25
1.7. LES DIFFÉRENTS TYPES DE PALUDISME À <i>PLASMODIUM FALCIPARUM</i> .	25
1.7.1. ACCÈS PALUSTRE SIMPLE.	25
1.7.2. PALUDISME VISCÉRAL ÉVOLUTIF.	26
1.7.3. LA FIÈVRE BILIEUSE HÉMOGLOBINURIQUE.	26
1.7.4. ACCÈS PALUSTRE GRAVE À <i>PLASMODIUM FALCIPARUM</i> .	26
1.7.5. LA MALARIA DE LA FEMME ENCEINTE.	27
1.7.6. LA MALARIA DE L'ENFANT DU AU <i>PLASMODIUM FALCIPARUM</i> .	28
1.7.7. LA MALARIA TRANSFUSIONNELLE.	28
1.7.8. LA SPLÉNOMÉGALIE TROPICALE.	28
1.8. LES TRAITEMENTS.	29
1.8.1. DÉFINITIONS :	29
1.8.2. TRAITEMENT DU PALUDISME.	29
1.8.3. RESISTANCE DES PLASMODIUM.	31
1.9. PRÉVENTION.	32
1.9.1. LES MOYENS DE COMBATTRE LES MOUSTIQUES.	34
1.9.2. LA PROPHYLAXIE.	36

1.9.3. DES DÉFENSES POUR L'HÔTE : L'IMMUNITÉ.	37
1.9.4. DES DÉFENSES POUR L'HÔTE : LES FACTEURS GÉNÉTIQUES.	39
1.10. LE CONTRÔLE DU PALUDISME.	40
1.11. DANS LE FUTUR, QUELLES SOLUTIONS ?	41
2. <u>UN VACCIN CONTRE LE PALUDISME :</u>	43
<u>UN LONG CHEMIN SEMÉ D'EMBUCHES.</u>	
2.1. QU'EST-CE QU'UN VACCIN ?	43
2.2. UN VACCIN CONTRE LE PALUDISME EST-IL POSSIBLE ET QUE SERAIT UN VACCIN IDÉAL ?	44
2.2.1. POURQUOI UN VACCIN CONTRE LA MALARIA EST-IL SI DIFFICILE À DÉVELOPPER ?	44
2.2.2. EST-CE QU'UN VACCIN CONTRE LE PALUDISME EST FAISABLE ?	45
2.2.3. A QUOI RESSEMBLERAIT UN VACCIN IDÉAL ?	46
2.2.4. UN DÉFI ET DE NOMBREUSES DIFFICULTÉS...	47
2.3. UNE FORMIDABLE COMPLEXITÉ BIOLOGIQUE.	48
2.4. UN VACCIN POUR QUI ?	54
2.5. LES ADJUVANTS.	57
2.6. CONTRAINTES ET LIMITES DES MODÈLES.	58
2.7. LES ESSAIS SUR LE TERRAIN.	61
2.8. DE LA NÉCESSITÉ DE DÉVELOPPER DE NOUVELLES TECHNIQUES.	66
2.9. DES OBSTACLES AUXQUELS NOUS N'AURIONS PAS PENSÉ.	70
3. <u>UNE IMMUNITÉ COMPLEXE,</u>	
<u>DES STRATÉGIES VACCINALES INNOVATRICES.</u>	73
3.1. LA ROADMAP.	73
3.2. UN PARASITE, TROIS STADES, DE MULTIPLES POSSIBILITÉS.	74
3.2.1. L'IMPORTANCE DE COMPRENDRE L'IMMUNITÉ.	75
3.2.2. LES VACCINS PRÉ-ÉRYTHROCYTAIRES OU HÉPATIQUES.	77
3.2.3. LES VACCINS ÉRYTHROCYTAIRES.	78
3.2.4. LES VACCINS CIBLANT LE STADE SEXUEL DU PARASITE.	80
3.3. LES STRATÉGIES VACCINALES.	81
3.3.1. ÉTABLIR UNE APPROCHE SYSTÉMATIQUE POUR DONNER LA PRIORITÉ AUX VACCINS CANDIDATS DE SOUS-UNITÉS UTILISANT DES CRITÈRES PRÉCLINIQUES ACCEPTÉS.	82
3.3.2. VACCINS ANTIMALARIQUES : POUR QUOI ET POUR QUI ?	83
3.3.3. LES DIFFÉRENTS TYPES DE VACCINS.	83
3.3.4. POURSUIVRE LES APPROCHES MULTI-ANTIGÈNE, MULTI-STADE ET DE PARASITE ENTIER.	84
3.3.5. ADMINISTRATION DE PEPTIDES OU DE PROTÉINES.	87

3.3.6. LES VACCINS À ADN.	88
3.3.7. VACCINS ANTITOXINES.	89
3.3.8. STRATÉGIES DE VACCINATION « PRIME-BOOST ».	89
3.4. LES VACCINS À L'ÉTUDE.	90
3.4.1. PROJECTIONS.	90
3.4.2. VACCINS PRÉ-ÉRYTHROCYTAIRES.	91
3.4.3. VACCINS DE PARASITE ENTIER.	93
3.4.4. VACCINS DE STADE ÉRYTHROCYTAIRE : INVASION ET COMPLICATION.	94
3.4.5. LES VACCINS DE STADE SEXUEL : LE VACCIN ALTRUISTE.	
ANTICORPS BLOQUANT LA TRANSMISSION.	98
3.4.6. CONCLUSION.	98
CONCLUSION.	99
ANNEXE.	103
BIBLIOGRAPHIE.	107

INTRODUCTION

Ces dernières décennies, la recherche de vaccins contre le paludisme est devenue une priorité.

Pourquoi ?

Le paludisme est la première maladie parasitaire humaine. L'OMS compte entre 100 et 300 millions de cas par an dont dix millions d'accès pernicieux.

Le paludisme cause deux millions de décès par an et ne touche pas seulement certains continents comme l'Afrique où il provoque 30% des admissions hospitalières en pédiatrie et 40% des consultations en dispensaire, mais aussi des pays où il n'y a pas transmission du fait des voyages et de la mondialisation.

Ainsi, en France métropolitaine, 6000 cas de paludisme sont dénombrés chaque année, dont 254 cas de paludisme grave et 20 décès par an, généralement dus à des retards de diagnostic. Pire encore, en Guyane française, 30% des habitants sont touchés.

L'accroissement de la résistance des parasites à des médicaments largement distribués, car peu chers, tout comme l'extension de la résistance des moustiques aux insecticides et la difficulté à déployer des moyens de lutte simples tels que des moustiquaires imprégnées pour des raisons de coût retarde en fait le traitement et augmente le nombre de décès. C'est dire le poids du paludisme en santé publique et l'importance de trouver un vaccin.

Mais développer un vaccin demande du temps et comporte son lot d'échecs et de succès. Certaines recherches qui ont bénéficié d'une trop grande publicité, ont eu des résultats décevants qui ont fait douter quant à la faisabilité d'un vaccin. Néanmoins, au cours des dix dernières années, les essais vaccinaux réalisés ont beaucoup progressés.

Alors comment créer un vaccin efficace contre un tel parasite ? Quelles cibles attaquer ? Comment en étudier l'efficacité ou l'innocuité ? Et où en sont les recherches aujourd'hui ?...

Cette thèse se propose de décrire les obstacles et les défis auxquels se heurtent la mise au point de vaccins, de faire une description exhaustive des essais vaccinaux réalisés et de faire une relecture critique des démarches vaccinales utilisées actuellement.

1. LE PALUDISME, LE *PLASMODIUM FALCIPARUM* ET L'ANOPHÈLE.

*« En attendant que de mes veines parte
Cette exécration, horrible fièvre quarte
Qui me consume et le corps et le cœur,
Et me fait vivre en extrême langueur..., »*

En 2009, ces vers, extraits du premier livre des Poèmes de Pierre Ronsard (1560), sont toujours d'actualité.

1.1. HISTORIQUE.

C'est la fièvre qui prédomine dans les observations cliniques de cette maladie à travers la période historique et c'est la quinine qui, à partir de 1663, fera l'unanimité pour la combattre.

Hippocrate, médecin grec de l'antiquité (IV^{ème} siècle avant J.-C.) a donné une description extrêmement précise de l'accès fébrile et de sa périodicité ; ces fièvres périodiques sont aussi citées par les Egyptiens. Les Chinois, quant à eux, donnent de l'accès une description particulièrement imagée faisant se succéder au chevet du patient, des démons armés du brasero, du marteau et de la marmite d'eau froide.

Les noms donnés officiellement à l'infection plasmodiale, Mal-aria (en italien: mauvais air), fièvre des marais ou paludisme (du latin palus: marais), évoquent toute la responsabilité des eaux de surface.

Ce sont les Jésuites installés en Equateur qui remarquent que les mineurs indiens mâchaient l'écorce d'un certain arbre lorsqu'ils sentaient venir les frissons. Ils transfèrent cette observation au Pérou où le nom de la princesse de Cinchon, qui en reçoit la bienfaisante action lors d'un accès fébrile, sera donné au genre botanique (Cinchona).

Au temps de Louis XIV, un apothicaire anglais du nom de Talbot détient le secret d'une préparation à base de quinquina: ce sera la panacée universelle.

Pelletier et Caventou isolent le principe actif, la quinine, en 1870.

Le rôle du moustique des marécages est évoqué par Lancisi en 1717: le poison serait concentré par le moustique dans ses pièces buccales.

La preuve expérimentale est apportée par Ross en 1897.

Chez l'homme, la transmission expérimentale est réussie par Grassi à Rome en 1898 qui, après s'être acharné à nourrir sans succès des Culex, essaye par hasard des anophèles qui permettent enfin d'observer des formes sporogoniques de *P. falciparum* et de *P. vivax*.

Le cycle complet du parasite chez l'anophèle est décrit en Italie par Bignami et Grassi en 1898. (1)

Jusqu'en 1935, on se contente de la quinine comme thérapeutique du paludisme: c'est un bon médicament, fiable, bon marché et peu toxique. Il faut attendre les guerres, accompagnées de difficultés d'approvisionnement en écorce de quinquina, pour voir la recherche thérapeutique se mettre en action:

Année	Molécule	Auteur
Entre 1930 et 1940 :	Pamaquine	Synthétisée par Schuleman
	Quinacrine	Synthétisée par Mause et Mietsh
	Chloroquine	Synthétisée par Andersag
Entre 1945 et 1950	Amodiaquine et Primaquine	Découvertes par Burckhalter
	Pyriméthamine	Découverte par Hitchings
	Chlorproguanil	Découverte par Curd
	Proguanil	Découverte par Davey et Rose

En 1939, Muller décrit les propriétés insecticides du DDT. Cette découverte, avec celle de la chloroquine, amène l'espoir de pouvoir un jour se débarrasser du paludisme à l'échelle de la planète et, entre 1950 et 1970, l'Organisation Mondiale de la Santé lance le programme global d'éradication du paludisme ("*le monde uni contre le paludisme*").

Dès avant 1960, certains anophèles deviennent résistants au DDT. Les produits de remplacement sont plus chers, parfois plus toxiques et moins efficaces.

Entre 1962 et 1970, l'apparition dans certaines régions du monde, de souches de *P. falciparum* résistantes à la chloroquine relance la recherche de nouvelles molécules actives, mais les résultats sont assez décevants

Sans que les phénomènes de résistances en soient la cause exclusive, l'échec de l'éradication est reconnu à partir de 1970 et on ne parle plus que du "contrôle".

Il faut alors songer à un nouveau moyen de protection... (2)

1.2. ÉPIDÉMIOLOGIE.

1.2.1. RÉPARTITION DANS LE MONDE.

Le paludisme est souvent évoqué à l'échelle mondiale, comme une maladie unique, invariable. On en a organisé l'éradication mondiale, dans les articles de presse, il est fait

allusion aux pays "endémiques", à la prophylaxie et au traitement des cas, récemment à la vaccination, sans distinction, globalement.

Or, sur le terrain, le paludisme est une maladie qui prend des allures épidémiologiques, des gravités, des répartitions dans le temps et dans l'espace, extrêmement variables. Le paludisme doit être envisagé comme une maladie locale.

Au point de vue parasitologique, on a affaire à quatre espèces de plasmodiums dont le comportement chez l'homme diffère par plusieurs caractères importants. Nous nous intéresserons surtout au plasmodium le plus redoutable : le *Plasmodium falciparum*.

Au point de vue climatique, facteur essentiel qui influence la transmission, il ne suffit pas de distinguer régions polaires, tempérées, subtropicales, tropicales: il faut aussi considérer l'altitude, l'humidité, les régions côtières, les forêts inondées, les zones désertiques et les oasis, bref chaque "localité" possède un microclimat qui doit être défini avec précision.

Le vecteur est, lui aussi, très différent d'un endroit à l'autre. Chaque espèce d'anophèle possède des caractères de longévité, d'adaptation au parasite, de préférence nutritionnelle (homme ou animaux), de fréquence de repas sanguins ainsi que des choix des lieux de repos et de gîtes larvaires qui lui sont propres.

L'homme lui-même, hôte vertébré du parasite, sera génétiquement sensible ou résistant à telle espèce de plasmodium; il va acquérir une immunité plus ou moins rapidement; il exerce des activités qui modifient l'environnement (irrigations, créations de collections d'eau, barrages) ou qui l'amènent en contact plus fréquent avec le vecteur (activités nocturnes: pêche, chasse, danse); il vit dans des habitations qui permettent aux anophèles d'entrer ou au contraire dans des constructions qui le mettent à l'abri des vecteurs dont les activités sont essentiellement nocturnes.

Plasmodium falciparum, un parasite cosmopolite avec nette prédominance dans les pays tropicaux, a été éradiqué du bassin méditerranéen et du sud des Etats-Unis d'Amérique. Il constitue toujours un grave problème dans la plupart des pays tropicaux: Afrique au sud du Sahara, Asie du Sud et du Sud-est, Amérique centrale, Amérique du Sud.

(3)

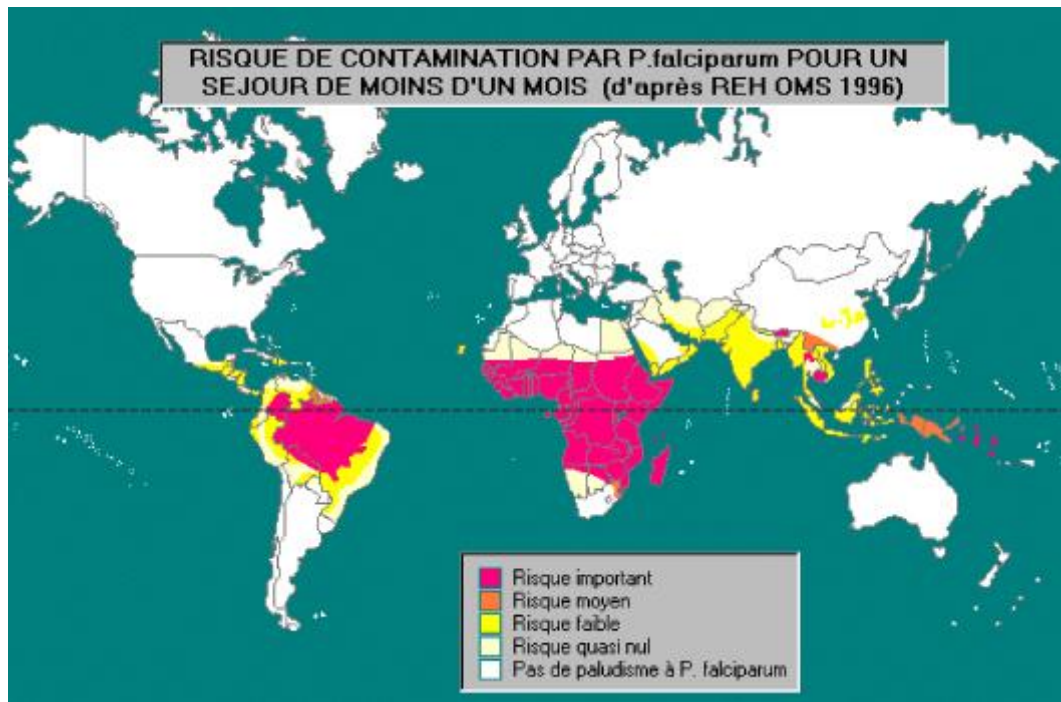


Figure 1 : risque de contamination par *P. falciparum* pour un séjour de moins d'un mois (d'après REH OMS 1996)

1.2.2. CLASSIFICATION DES SITUATIONS ÉPIDÉMIOLOGIQUES.

Il existe différentes sortes de paludisme que l'on peut différencier en six classes :

- L'endémicité, qui se rapporte à un degré de prévalence incluant fréquence et intensité des infections.
- L'épidémie, qui consiste en une augmentation soudaine et importante de la morbidité et de la mortalité dues au paludisme.
- Le paludisme autochtone, qui est contracté sur place.
- Le paludisme importé, qui est une infection contractée en dehors de la zone concernée.
- Le paludisme introduit, qui est une infection contractée localement à partir de cas importés.
- Le paludisme sporadique, qui est la constatation de quelques cas épars sans que l'on puisse parler d'endémie.

Tous les anophèles (genre de moustique qui transmet la maladie, défini plus loin) ne sont pas bons vecteurs du paludisme humain et, parmi les bons vecteurs, certains transmettent par intermittence et d'autres de façon quasi continue, en fonction de divers

facteurs. L'importance du vecteur est telle qu'elle détermine deux grands types de paludisme, **stable** ou **instable**. (4)

On parle de paludisme **stable** lorsque la saison de transmission est très longue et qu'il y a peu de changement dans l'incidence au cours de l'année et d'une année à l'autre. Les changements climatiques sont trop peu importants pour influencer l'activité de transmission des anophèles et la température assure un cycle sporogonique rapide. Le vecteur est hautement anthropophile et sa durée de vie est longue.

Le paludisme **stable** est le plus souvent un paludisme à *P. falciparum* et il entretient chez la population un degré de protection immune très important. On observe, entre le groupe d'âge de 1 à 4 ans et celui des adultes, une baisse progressive des densités parasitaires moyennes. Dans une région de l'Inde à paludisme stable, on a observé des densités moyennes de 12.000 par μl chez les enfants alors que le groupe des adultes a une densité moyenne d'environ 100 parasites par μl . C'est la prémunition qui est responsable de cet effondrement.

Le paludisme **instable** est une situation dans laquelle un écart climatique minime, des variations dans l'intensité de reproduction des anophèles ou un léger changement de structure de la population humaine causent un arrêt presque complet de la transmission ou au contraire une flambée épidémique chez des sujets sans immunité. L'incidence varie d'un point à un autre, on peut observer l'anophélisme sans paludisme à certains endroits. Ce type instable existe lorsque le vecteur est peu anthropophile ou de longévité courte, lorsque la température est à la limite de tolérance pour le développement du parasite (la sporogonie n'a lieu qu'à 18°C) et que la densité du vecteur doit obligatoirement être très forte pour assurer une transmission.

Paludisme **instable** ne veut pas dire paludisme saisonnier. Ce type de transmission fluctuante peut très bien être observé dans un milieu dont les caractéristiques climatiques ne changent pas au cours du temps.

A l'intérieur de ces deux types, stable et instable, on peut observer des degrés d'intensité différents. (1)

1.3. CAUSES.

1.3.1. LE PLASMODIUM, PARASITE DU PALUDISME.

Le paludisme est causé par un parasite protozoaire du genre Plasmodium (phylum Apicomplexa). Chez les humains, le paludisme est causé par *P. falciparum*, *P. malariae*, *P. ovale*, *P. vivax* et *P. knowlesi*. *P. falciparum* est la cause la plus commune des infections, responsable d'environ 80 % de tous les cas de paludisme, ainsi que de 90 % des décès.

Les Plasmodium infectent également les oiseaux, les reptiles, les singes, les chimpanzés et les rongeurs. On a rapporté des cas d'infections humaines avec des espèces

simiesques du paludisme (dont *P. knowlesi*, *P. inui*, *P. cynomolgi*, *P. simiovale*, *P. brazilianum*, *P. schwetzi* et *P. simium*).

Cependant, à l'exception de *P. knowlesi*, ces infections restent limitées et sans importance en termes de santé publique. Le paludisme aviaire peut tuer les poulets et les dindes, mais cette maladie ne cause pas de dommages économiques notables à l'agriculture. Cependant, depuis qu'il a été introduit par les humains, le paludisme a décimé les espèces endémiques d'oiseaux d'Hawaii, qui avaient évolué en son absence et sans défense contre le paludisme.

Le plasmodium a été découvert par le médecin militaire Laveran à Constantine en 1880. Il se présente sous la forme d'un protozoaire très petit (1 à 2 μ selon les formes) ; la coloration au May-Grünwald-Giemsa montre qu'il est constitué d'un cytoplasme bleu pâle entourant une vacuole nutritive claire, et contenant un noyau rouge et du pigment brun-doré ou noir (hémotoïne).

Le cycle évolutif du Plasmodium est assez complexe et nécessite deux hôtes, un hôte définitif, l'homme, et un hôte intermédiaire et vecteur, la femelle hématophage d'un moustique du genre anophèle. D'un point de vue strictement biologique, le véritable hôte définitif est le moustique (la reproduction sexuée parasitant l'anophèle).

L'homme ne serait qu'un hôte intermédiaire dans son cycle répliatif. Néanmoins, pour des raisons anthropocentriques, on considère que le vecteur n'est pas l'homme mais le moustique et par conséquent que cette zoonose est du type zooanthroponose. (1)

1.3.2. L'ANOPHÈLE, VECTEUR DU PALUDISME.

Le vecteur du parasite ainsi que son hôte primaire et définitif est la femelle du moustique du genre Anophèle. Lors d'un repas sanguin sur un individu infecté, l'Anophèle femelle ingère des gamétocytes, à potentiel sexuel mâle ou femelle. Ceux-ci parviennent dans l'estomac du moustique et se transforment en gamètes.

Le gamète mâle subit un processus d'exflagellation à la suite duquel les gamètes femelles sont fécondés. Il en résulte un zygote appelé ookinète ; celui-ci s'implante sous la paroi stomacale en formant l'oocyste.

Cette brève phase diploïde s'achève par une division méiotique et est suivi par plusieurs milliers de mitoses qui conduisent au développement de sporozoïtes. L'éclatement de l'oocyste libère ces éléments mobiles et haploïdes dans l'hémolymphe. Les sporozoïtes gagnent préférentiellement les glandes salivaires du moustique d'où ils pourront être injectés avec la salive lors d'une piqûre infestante.

Chez le moustique, l'ensemble de ce cycle se déroule en 10 à 40 jours, suivant la température extérieure et les espèces en cause.

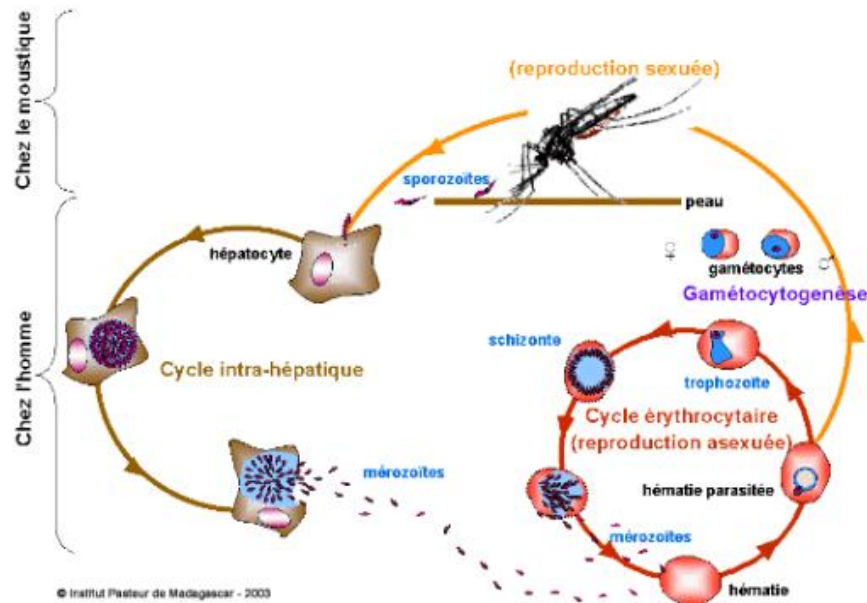


Figure 2 : cycle de *Plasmodium* (Source : www.pasteur.org)

Seules les moustiques femelles se nourrissent de sang : les mâles ne transmettent pas la maladie. Les femelles anophèles se nourrissent de préférence la nuit, et commencent à chercher leur repas au crépuscule, en continuant pendant la nuit jusqu'à ce qu'elles aient trouvé leur repas.

Les parasites peuvent aussi être transmis par transfusion sanguine, bien que ce moyen de transmission soit assez rare. (3)

1.3.3. CYCLE DU PARASITE CHEZ L'HUMAIN.

1.3.3.1. PHASE HÉPATIQUE.

Au cours de la piqûre, l'Anophèle femelle infectée injecte dans un capillaire des sporozoïtes. Il est à noter que moins de 20% des piqûres de moustiques contenant des sporozoïtes dans leurs glandes salivaires sont responsables d'infections en zone d'endémie.

Les sporozoïtes transitent dans la circulation générale et, en quelques minutes, ils envahissent les hépatocytes grâce à une interaction spécifique entre la protéine majeure de surface du sporozoïte (CSP) et un récepteur spécifique situé sur la membrane plasmique de l'hépatocyte du côté de l'espace de Disse, espace directement en contact avec le sang circulant.

Le sporozoïte entre alors dans une phase de réplication, au sein de la vacuole parasitophore, et de prolifération intracellulaire qui repousse en périphérie le noyau de la cellule et finit par constituer une masse multinucléée appelée schizonte qui conduit à la libération de plusieurs dizaines de milliers de mérozoïtes dans la circulation.

Cette phase de multiplication est asymptomatique et dure de 8 à 15 jours, selon les espèces. Contrairement à *P. vivax*, *P. falciparum* ne possède pas de formes de persistance hépatique ou hypnozoïtes.

1.3.3.2. PHASE SANGUINE

Seule cette phase est responsable des symptômes qui peuvent être d'intensité variable. Les mérozoïtes libérés lors de la rupture de l'hépatocyte vont débiter le cycle sanguin asexué de prolifération de *P. falciparum* en infectant les érythrocytes.

Le mérozoïte pénètre grâce à un processus parasitaire actif et se différencie au sein de la vacuole parasitophore en anneau, puis en trophozoïte, stade à partir duquel une intense phase répliative commence. Il donne alors naissance au schizonte, celui-ci après segmentation montre une forme caractéristique de rosace, puis libère 8 à 32 mérozoïtes qui rapidement réinfectent des érythrocytes sains. L'ensemble de ce cycle dure 48 heures chez *P. falciparum*.

L'apparition des gamétocytes a lieu en général la deuxième semaine qui suit l'infection et ces formes peuvent persister plusieurs semaines après la guérison. A la suite d'une nouvelle piqûre par une Anophèle, les gamétocytes mâles et femelles (au dimorphisme sexuel marqué) sont ingérés avec le repas sanguin.

Il est important de noter que l'érythrocyte, ne possédant pas de système de synthèse et de transport des protéines et n'exprimant pas de molécules du MHC (système majeur d'histocompatibilité) de classe I ou II à sa surface, est un refuge idéal pour un parasite qui doit perdurer de longues périodes chez son hôte, afin d'être transmis au moustique. (5)

1.3.3.2.1. ULTRASTRUCTURE DU MÉROZOÏTE ET PROCESSUS D'INVASION DE L'ÉRYTHROCYTE :

La plupart des données sur la structure des mérozoïtes ont été obtenues chez *P. knowlesi* ; les mérozoïtes de cette espèce étant moins fragiles que les autres. La structure des mérozoïtes de *P. falciparum* a été décrite par Langreth en 1978.

C'est une petite cellule polarisée de forme ovoïde de 1,5µm de long et 1µm de large. Comme tous les Apicomplexa, cette forme parasitaire possède plusieurs types d'organites apicaux : les rhoptries, les micronèmes et les granules denses (figure 4). Ceux-ci sont impliqués, de manière séquentielle, dans le processus d'invasion de l'érythrocyte.

Le mérozoïte est recouvert d'un manteau, sous lequel, en plus de la membrane plasmique, se trouvent deux autres membranes connectées par un important matériel fibrillaire et reliées au cytosquelette.

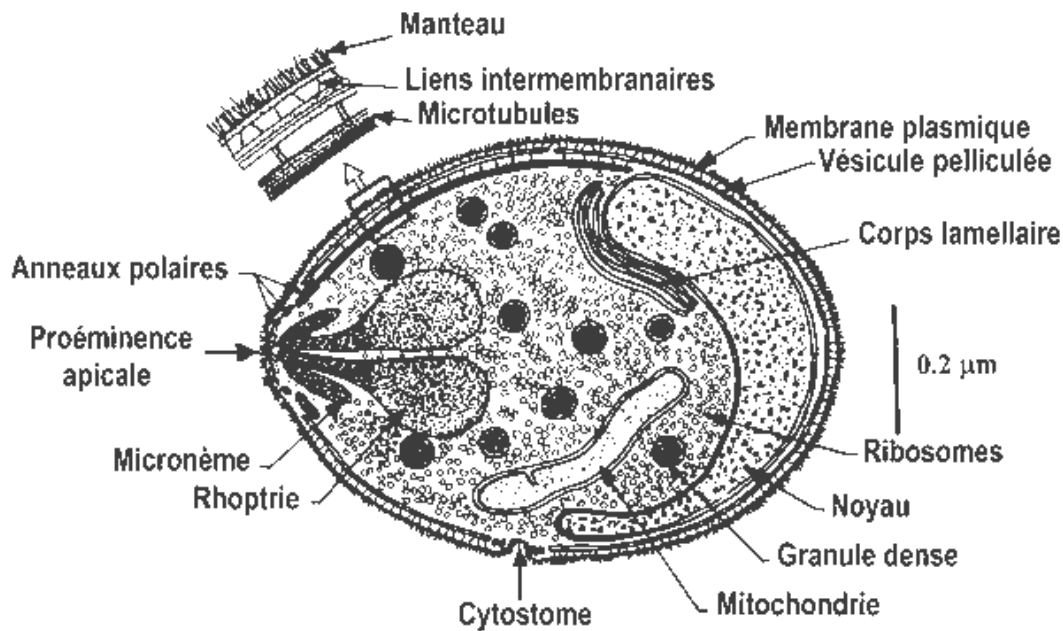


Figure 3 : représentation schématique de la section d'un mérozoïte de *Plasmodium falciparum* et des ultrastructures de la cellule. (Source : www.ebischoff.free.fr)

Le processus d'invasion de l'érythrocyte par le mérozoïte se déroule en plusieurs étapes (figure 4) : reconnaissance et attachement à la membrane de la cellule cible, réorientation du mérozoïte, formation de la jonction serrée, puis formation de la vacuole parasitophore et, enfin, internalisation du parasite. *P. falciparum* utilise comme récepteur de surface sur le globule rouge, les résidus d'acide sialique présents sur les molécules de Glycophorine A ou de Glycophorine B ou C. Le principal ligand parasite de *P. falciparum* est EBA-175 qui est localisé dans les micronèmes, dont l'exocytose est responsable de la formation de la jonction serrée. Cette protéine fait partie de la famille des protéines à DBL Domain.

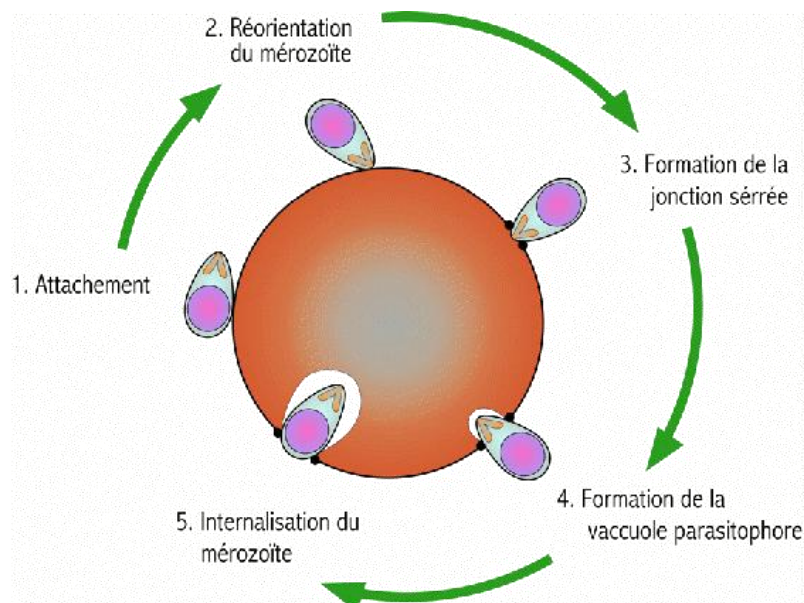


Figure 4 : représentation schématique des différentes étapes de l'invasion. (Source : www.ebischoff.free.fr)

Après la formation de la jonction serrée entre le parasite et le globule rouge, celle-ci se déplace de part et d'autre du point initial d'interaction, entraînant l'internalisation du mérozoïte par un système de motilité lié à l'actine. Au moment de la formation de la jonction serrée, le parasite libère le contenu des rhoptries pour former la vacuole parasitophore. Ensuite les granules denses apicaux et latéraux sont déchargés dans la vacuole.

1.3.3.2.2. ULTRASTRUCTURE DES STADES INTRA-ÉRYTHROCYTAIRES ET MODIFICATIONS STRUCTURELLES DE L'ÉRYTHROCYTE INFECTÉ :

Compartiments intracellulaires du parasite et structures particulières :

Comme tout eucaryote, *Plasmodium* possède plusieurs compartiments intracellulaires : tout d'abord un noyau dont la membrane ne disparaît pas pendant la mitose (cryptogamie). *P. falciparum* possède un réticulum endoplasmique rudimentaire mais la présence d'un véritable appareil de Golgi est encore débattue. Outre la mitochondrie, le parasite possède un autre endosymbionte : l'apicoplaste qui contient l'ADN circulaire de 35kb reliquat du génome de l'organisme intégré et très proche de l'ADN chloroplastique.

L'apicoplaste est entouré d'une quadruple membrane lipidique. Le cytoplasme parasitaire est délimité par la membrane plasmique. Après l'invasion, le parasite reste dans sa vacuole parasitophore, qui plonge ses ramifications, en réseau de tubules et vésicules, dans le cytoplasme de l'érythrocyte pour former le Réseau Tubo-Vésiculaire (ou TVN). Au point d'initiation de l'invasion pourrait subsister un point de contact entre le TVN et la membrane plasmique de l'érythrocyte, ouvert sur le milieu extérieur : le « duct ».

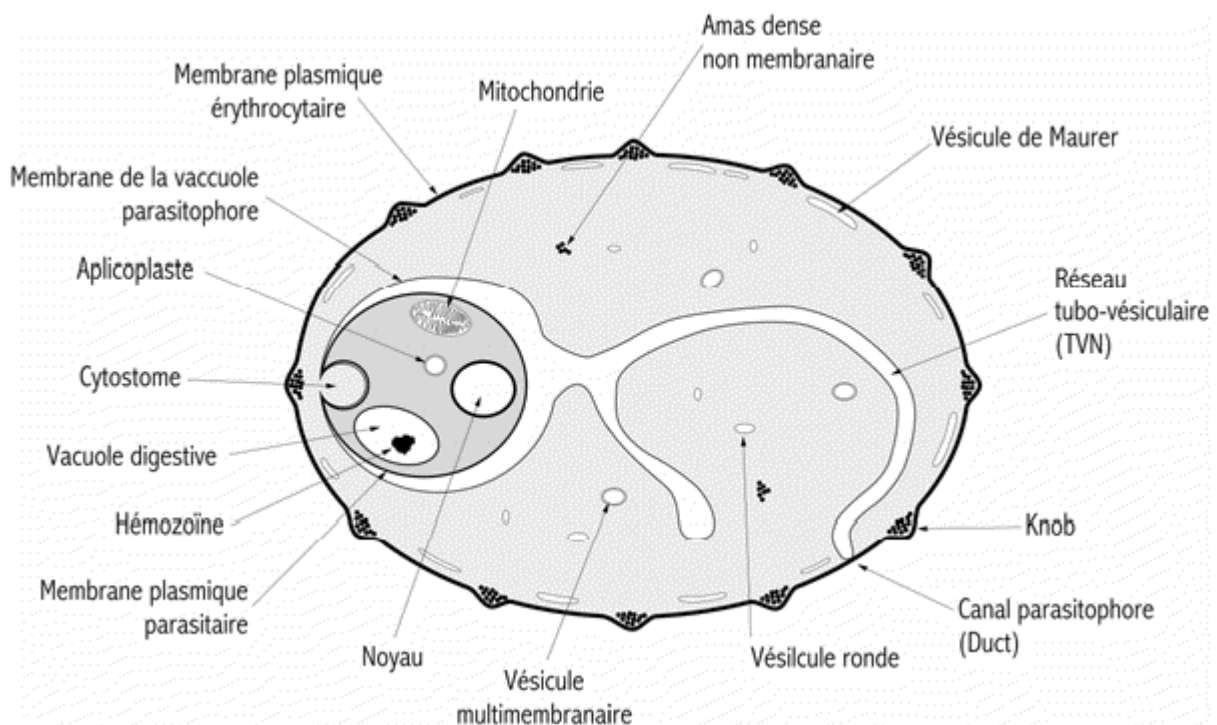


Figure 5 : représentation schématique de l'érythrocyte parasité. (Source : www.ebischoff.free.fr)

En 2005-2006 a été montré par imagerie chez des rongeurs que les mérozoïtes étaient capable de fabriquer des cellules mortes un « cheval de Troie » leur permettant de quitter le foie pour la circulation sanguine en échappant au système immunitaire.

La cellule de foie infectée contient environ 10 000 mérozoïtes. Elle meurt sous l'effet de l'infection en se transformant en structures dites « mérosomes », lesquelles pleines de parasites gagnent les vaisseaux sinusoïdes du foie pour déboucher dans le système sanguin où les mérozoïtes se dispersent. Les mérozoïtes semblent à la fois guider ce véhicule et s'y cacher. Ils semblent le conserver en masquant les signaux biochimiques qui alertent normalement les macrophages.

Il y a peut-être là une piste nouvelle pour des médicaments actifs avant le stade de l'invasion des globules rouges.

1.4. SYMPTÔMES.

Les symptômes du paludisme incluent de la fièvre, des tremblements intermittents, des arthralgies, des nausées et vomissements, de l'anémie causée par l'hémolyse, l'hémoglobinurie, et des convulsions. Des sensations de picotements peuvent apparaître sous la peau, notamment quand le paludisme est causé par *P. falciparum*. (2)

Le symptôme le plus classique du paludisme est la répétition cyclique d'une sensation de froid soudaine suivie de frissons et de fièvre et de sudations durant quatre à six heures. *P. falciparum* peut entraîner des fièvres toutes les 36-48 heures, ou une fièvre continue et moins prononcée. Pour des raisons encore peu comprises, mais pouvant être liées à la pression intracrânienne, les enfants atteints du paludisme ont souvent une posture anormale, indiquant de sévères dommages cérébraux.

Le paludisme peut entraîner des retards cognitifs, en particulier chez les enfants. Il cause une anémie générale pendant une période de développement cérébral rapide, ainsi que des dommages cérébraux directs. Les dommages neurologiques résultent du paludisme cérébral auquel les enfants sont plus vulnérables.

Le paludisme grave est causé quasi exclusivement par les infections de *P. falciparum* et survient généralement 6 à 14 jours après l'infection. Ce type de paludisme peut entraîner le coma et la mort s'il n'est pas traité. Les enfants et les femmes enceintes sont particulièrement vulnérables.

D'autres symptômes incluent la splénomégalie, des céphalées sévères, l'ischémie cérébrale, l'hépatomégalie, l'hypoglycémie, l'hémoglobinurie ainsi que des problèmes rénaux. Si les reins cessent de fonctionner, une fièvre particulière peut survenir, lorsque l'hémoglobine des globules rouges fuit dans l'urine. Le paludisme sévère peut progresser extrêmement rapidement et causer la mort en quelques jours voire quelques heures.

Dans les cas les plus graves, le taux de mortalité peut dépasser 20 %, même avec des soins importants. Dans les zones endémiques, les traitements sont souvent peu satisfaisants et le taux de mortalité global pour tous les cas de paludisme peut atteindre un sur dix. A plus

long terme, des problèmes de développement ont été rapportés pour les enfants ayant souffert de périodes de paludisme sévère.

Le paludisme chronique peut être causé par *P. vivax* et *P. ovale* mais pas par *P. falciparum*. (5)

1.5. DIAGNOSTIC.

1.5.1. DIAGNOSTIC CLINIQUE.

C'est la constatation d'un accès fébrile, décrit classiquement avec sa périodicité et sa séquence : frisson, chaleur et transpiration.

En zone d'endémie, l'immunité et les infections mixtes embrouillent le tableau clinique. La difficulté vient des parasites asymptomatiques.

En pathologie d'importation, la profession, les notions de voyage récent et d'interruption prématurée d'une chimioprophylaxie doivent faire envisager ce diagnostic. L'éventualité du paludisme chez les voyageurs à leur retour est généralement ignorée. (1)

1.5.2. LE DIAGNOSTIC SPÉCIFIQUE.

Les techniques de diagnostic actuellement en usage comprennent la mise en évidence de parasites dans le sang et la titration des anticorps antiplasmodium dans le sérum.

Actuellement à l'étude, la détection d'antigène plasmodial dans le sang total à l'aide d'anticorps monoclonaux ou le repérage d'ADN plasmodial par hybridation avec des sondes marquées ou après amplification du type "polychain reaction" (PCR) détrôneront peut-être les méthodes microscopiques traditionnelles, éprouvées mais imparfaites et exigeant, pour être effectuées correctement, un personnel suffisamment expérimenté.

Les méthodes microscopiques sont la goutte épaisse et le frottis ; ce sont sur ces techniques seules que repose actuellement le diagnostic de certitude. Ce sont aussi les méthodes de diagnostic les moins chères, les plus fiables et les plus répandues. Elles permettent d'identifier les caractéristiques uniques de chacune des quatre espèces de parasites.

Les plaques fines sont similaires aux autres frottis sanguins et permettent d'identifier l'espèce de parasite, car l'aspect du parasite est mieux conservé.

Le test par goutte épaisse permet de parcourir un volume sanguin plus large, d'où une sensibilité environ 11 fois plus élevée qu'avec une plaque fine. Des niveaux d'infection plus bas peuvent donc être détectés, mais l'apparence du parasite est déformée et il est plus difficile de distinguer les espèces. Les deux méthodes sont donc utilisées pour un diagnostic complet.

Avec la goutte épaisse, un opérateur expérimenté peut détecter des niveaux de parasites très bas, de l'ordre de 0,0000001 % des globules rouges. Le diagnostic au microscope peut être difficile car les premiers trophozoïtes (« en anneau ») des quatre espèces ont une apparence presque identique ; l'identification de l'espèce se base toujours sur plusieurs trophozoïtes. (5)

1.6. MANIFESTATIONS CLINIQUES.

Les manifestations cliniques du paludisme n'apparaissent qu'au cours de la multiplication asexuée des plasmodiums à l'intérieur des hématies faisant du paludisme, au sens propre, une érythrocytopathie parasitaire.

Cette dernière aboutit à :

- des accès fébriles violents et rythmés;
- une destruction massive d'hématies (directe et indirecte) qui entraîne une anémie hémolytique et réaction du SRH (splénomégalie progressive);
- une biligénie pigmentaire, d'où subictère (et hépatomégalie de reprise);
- une détérioration de l'état général pouvant aboutir à la cachexie.

L'étude des cycles permet de comprendre le déroulement d'un paludisme non traité.

Les 6 à 10 accès constituant l'atteinte de primoinvasion seront suivis d'atteintes semblables de recrudescence tant que durera l'état latent de la parasitémie responsable de la première atteinte, soit de 2 mois à 2 ans selon le plasmodium. (1)

1.7. LES DIFFÉRENTS TYPES DE PALUDISME À *PLASMODIUM FALCIPARUM*.

Les complications graves ne concernent en général que *Plasmodium falciparum*, ce qui explique l'absence de chimioprophylaxie pour les voyages dans des contrées où ne sévit que *P. vivax* (Maghreb par exemple).

1.7.1. ACCÈS PALUSTRE SIMPLE.

La crise de paludisme, appelée également accès palustre, est caractérisée par des accès fébriles, avec une fièvre à plus de 40°C, des frissons, suivis d'une chute de température accompagnée de sueurs abondantes et d'une sensation de froid.

Classiquement, on distingue la fièvre tierce (c'est-à-dire survenant tous les 2 jours) due à *Plasmodium vivax* et *Plasmodium ovale* (fièvre tierce bénigne) et *Plasmodium falciparum* (fièvre tierce maligne) de la fièvre quarte (c'est-à-dire survenant tous les 3 jours) due à *Plasmodium malariae* (le terme « malaria » désignait spécifiquement la fièvre quarte).

Ces accès palustres ne se répètent pas avec *P. falciparum*, s'ils sont correctement traités et en l'absence de réinfestation (cas du paludisme d'importation, en général).

Actuellement, le diagnostic est plutôt suspecté, lors d'un épisode fébrile (en général, 40°C ou plus) alternant avec de grands frissons, des sueurs abondantes et une sensation de froid, au retour d'une zone infestée.

1.7.2. PALUDISME VISCÉRAL ÉVOLUTIF.

Autrefois appelé cachexie palustre, associant fièvre intermittente modérée, anémie et cytopénie, splénomégalie modérée chez des enfants de 2 à 5 ans. Dans le paludisme viscéral évolutif, l'organisme est visiblement débordé, et il faut le défendre à tout prix en s'attaquant successivement aux formes sanguines et tissulaires.

1.7.3. LA FIÈVRE BILIEUSE HÉMOGLOBINURIQUE.

Complication actuellement rarissime survenant chez des individus anciennement atteints de la malaria à *Plasmodium falciparum* vivant dans les pays de forte endémie (où une grande partie de la population est touchée) et liée à la prise de quinine ou d'autres molécules (halofantrine). Elle est secondaire à un éclatement des globules rouges à l'intérieur des vaisseaux (hémolyse intra-vasculaire).

Elle se caractérise par :

- une fièvre élevée,
- un état de choc avec prostration,
- un ictère,
- des urines de plus en plus foncées contenant des cylindres hyalins,
- une anémie,
- une hémoglobinurie (présence d'hémoglobine dans les urines, leur donnant une couleur porto),
- et surtout par une insuffisance rénale mortelle due à une destruction des tubules rénaux (nécrose tubulaire aiguë).

C'est une urgence médicale au même titre que l'accès pernicieux. Le traitement aura 3 buts :

- maîtriser l'oligo-anurie (par dialyse péritonéale)
- déparasiter le malade (par traitement anti-malarique n'incluant ni la quinine, contre-indiquée par l'hémolyse, ni les sulfamidés)
- traiter l'anémie hémolytique (par des transfusions, ménagées et résolument isogroupes, ou, mieux, quand on le peut, des exsanguino-transfusions).

1.7.4. ACCÈS PALUSTRE GRAVE À *PLASMODIUM FALCIPARUM*.

Il porte également les noms de : accès pernicieux palustre, neuropaludisme ou paludisme cérébral.

C'est une malaria cérébrale associant une élévation importante de la température (40°C) et un coma de mauvais pronostic malgré le traitement et pour lequel la mortalité

s'élève parfois à 20 % chez les adultes et 15 % chez les enfants. L'apparition d'une malaria sévère est soit progressive soit brutale. Elle débute après des convulsions instantanées et passagères d'un ou plusieurs muscles, suivies de décontractions.

Elles sont localisées ou généralisées à l'ensemble du corps. Cette variété de la malaria s'accompagne d'un nystagmus (tressautement des yeux dans le plan horizontal de façon incessante), quelquefois d'une raideur du cou et d'une perturbation des réflexes. Dans environ 15 % des cas, il existe des hémorragies de la rétine. La malaria sévère s'accompagne d'une anémie et d'un ictère. Les convulsions surviennent chez un adulte sur deux.

Les autres signes de ce type de la malaria sont l'hypoglycémie qui est de mauvais pronostic. Ce symptôme est dû à un mauvais fonctionnement du foie et à une consommation exagérée de sucre par le parasite. L'acide lactique, qui entraîne une augmentation de l'acidité du sang, est également de mauvais pronostic.

L'œdème pulmonaire n'est pas bien expliqué mais peut être à l'origine d'un taux de mortalité dépassant 80 %. L'atteinte des reins est plus rare chez l'enfant et s'accompagne également d'une forte mortalité. Son mécanisme n'est pas non plus éclairci.

Une autre complication susceptible de survenir au cours de cette variété de la malaria est la fièvre bilieuse hémoglobinurique. On assiste également à une hématurie due sans doute à une atteinte de l'estomac par une ulcération due au stress.

1.7.5. LA MALARIA DE LA FEMME ENCEINTE.

L'infection du placenta par le *Plasmodium falciparum* se traduit par un poids de naissance faible, tout particulièrement quand il s'agit d'un premier accouchement.

Quand la quantité de parasites dans le sang est relativement peu importante (c'est le cas dans les zones de transmission stable), les femmes ne présentent pas de signes alors que les parasites qui envahissent les globules rouges de la circulation, et plus précisément de la petite circulation du placenta, sont présents.

Dans les zones où la transmission est instable, les femmes enceintes présentent des infections sévères associées à des quantités élevées de parasites dans le sang avec une anémie, une hypoglycémie (qui touche particulièrement les femmes enceintes qui y sont prédisposées) et des œdèmes des poumons.

La grossesse est alors émaillée de problèmes à type de contractions prématurées, d'avortement spontané et de mortalité au moment de l'accouchement.

La malaria congénitale touche environ 5 % des nouveau-nés de mères infectées et est en relation directe avec la quantité de parasites dans le placenta.

1.7.6. LA MALARIA DE L'ENFANT DU AU *PLASMODIUM FALCIPARUM*.

Elle est la cause d'environ 1 à 3 millions de décès chaque année. Cette variété de la malaria touche essentiellement les Africains et s'accompagne de :

- Troubles neurologiques avec des convulsions (qui touchent beaucoup plus les enfants que les adultes) pouvant aller jusqu'au coma
- Hypoglycémie (touche particulièrement les enfants)
- Acidose métabolique
- Anémie sévère

Contrairement aux autres formes de la malaria, la malaria de l'enfant ne s'accompagne pas ou peu souvent d'une insuffisance rénale ni d'un œdème pulmonaire aigu. Dans cette variété de la malaria, le traitement est généralement efficace et rapide.

1.7.7. LA MALARIA TRANSFUSIONNELLE.

C'est une malaria, très rare, transmise par l'intermédiaire d'une transfusion sanguine ou après échange d'aiguilles entre individus drogués. *Plasmodium malariae* et *Plasmodium falciparum* sont le plus souvent mis en cause.

Dans ce cas, la période d'incubation est courte car il n'existe pas de cycle pré-érythrocytaire. La malaria transfusionnelle se traduit par les mêmes signes que ceux que l'on observe par le plasmodium.

Néanmoins, le *Plasmodium falciparum* est le plus souvent sévère chez les toxicomanes.

1.7.8. LA SPLÉNOMÉGALIE TROPICALE.

Dénommée actuellement splénomégalie palustre hyper-immune, cette splénomégalie se rencontre chez quelques individus qui vivent dans une zone où la malaria est endémique.

Ces personnes présentent une réponse immunologique anormale aux infections dues à la malaria, ce qui se traduit, en dehors de la splénomégalie, par une hépatomégalie, l'élévation d'un certain type d'immunoglobulines dans le sang (IgM, anticorps anti-palustres) et du nombre de lymphocytes à l'intérieur des sinusoides hépatiques.

La biopsie du foie et l'examen au microscope optique permettent de porter le diagnostic.

Les symptômes retrouvés sont :

- Tiraillement abdominal.
- Présence d'une masse abdominale.

- Douleurs abdominales violentes (péri-spléniques : inflammation des tissus environnant la rate).
- Anémie.
- Absence de parasites dans le sang.

Infections à répétition :

Elles entraînent des complications telles qu'un taux de mortalité élevé et prolifération des lymphocytes avec apparition d'un syndrome lymphoprolifératif malin susceptible de se développer chez les individus présentant une résistance au traitement antipaludique. (5)

1.8. LES TRAITEMENTS.

1.8.1. DÉFINITIONS :

On distingue 4 types de traitement :

- Le traitement suppressif, curatif ou prophylactique, a pour but de guérir ou de prévenir un accès clinique sans pour autant viser à faire disparaître tous les parasites.
- Le traitement radical a pour but d'éliminer tous les parasites de l'organisme.
- Le traitement antirechute a pour but d'éliminer les schizontes pré-érythrocytaires à développement lent.
- Le traitement présomptif est administré sans attendre le diagnostic de certitude.

Il existe 2 types de prophylaxie qui sont d'une part, la prophylaxie causale, qui est une prévention totale d'infection érythrocytaire par action sur les formes pré-érythrocytaires ; et d'autre part, la prophylaxie suppressive, qui est une prévention de l'accès clinique. C'est la chimioprophylaxie comme on l'entend habituellement, par administration régulière de schizonticides sanguins. (6)

1.8.2. TRAITEMENT DU PALUDISME.

Différentes classes de produits sont disponibles.

Un schizonticide sanguin est un produit actif contre les formes asexuées du sang (cause des manifestations cliniques) qui guérit l'accès de paludisme

Un schizonticide tissulaire est un produit actif contre les hypnozoïtes mûrissant lentement dans les hépatocytes et qui prévient les rechutes.

Un gamétocytocide est un produit actif contre les gamétocytes, qui vise à interrompre la transmission.

Un sporonticide inhibe la maturation des gamétocytes et les rend inaptes à continuer le cycle sporogonique et interrompt la transmission.

La stratégie actuelle se limite à réduire la morbidité et à tenter de supprimer la mortalité par le traitement curatif des malades, la chimioprophylaxie régulière des autochtones n'étant plus indiqué que pour les femmes enceintes. La prise prolongée d'antipaludéens s'est, en effet, révélée toxique. (7)

Inventaire des produits et des associations :

PRODUITS	ACTION	UTILISATION
Quinine (Quinimax®) Quinine benzoate (Hexaquine®) Chlorhydrate de quinine (Surquina®)...	Schizonticide sanguin	Per os: curatif de l'accès en cas de résistance à la chloroquine I.V. dans les accès pernicieux
4-amino quinoléines Chloroquine (Nivaquine®) Hydroxychloroquine sulfate (Plaquenil®) Chloroquine sulfate (Nivaquine®) Floctafénine (Idarac®) Mefloquine Chlorhydrate (Lariam®) Amodiaquine (Flavoquine®)	Schizonticides sanguins	Traitement curatif des accès. Attention aux résistances
8-aminoquinoléines Primaquine phosphate (Primaquine®)	Gamétocytocide et schizonticide tissulaire	Prévention des rechutes chez <i>P. vivax</i> et <i>P. ovale</i> .
Acridines Mépacrine (Atébrine®, Quinacrine®)	Schizonticide sanguin	N'est plus employé
Antifoliques Pyriméthamine (Malocide®) Triméthoprime Proguanil (Paludrine®)	Schizonticides sanguins (action lente) et sporonticides	La pyriméthamine n'est plus jamais employée seule Le proguanil assure la prophylaxie, en association avec la chloroquine
Sulfamides Sulfadoxine (dans Fansidar®) Sulfaméthoxazole (dans	Schizonticide sanguin (action lente)	Toujours associé aux antifoliques

Bactrim®)		
Sulfones Dapsone	Idem	Toujours associé aux antifoliques
Cyclines Tétracycline Doxycycline (Vibramycine) Doxycycline monohydrate (Doxypalu®)	Schizonticide sanguin	Curatif de l'accès résistant (associé à la quinine); la doxycycline est parfois utilisée pour la prophylaxie
Lincosamine Clindamicine (Dalacin®)	Schizonticide sanguin	Traitement curatif de l'accès résistant
Quinoline-méthanol Méfloquine (Lariam®)	Schizonticide sanguin	Prophylaxie Traitement curatif de l'accès
Phénanthrène-méthanol Halofantrine (Halfan®)	Schizonticide sanguin	Traitement curatif de l'accès
Extraits de <i>Artémisia annua</i> Quinghaosu (Artémisinine) Artémether (Paluther®) Artésunate	Schizonticide sanguins Action rapide	Traitement curatif de l'accès Accès pernicieux

Associations commercialisées :

- Sulfadoxine (500 mg) + pyriméthamine (25 mg) (Fansidar®)
- Sulfaméthoxazole (400 mg) + triméthoprim (80 mg) (Bactrim®)
- Atovaquone (250 mg) + Proguanil chlorhydrate (100 mg) (Malarone®)
- Proguanil chlorhydrate (200 mg) + Chloroquine sulfate (100 mg en chloroquine base) (Savarine®)
- Arthémether (20 mg) + Luméfantrine (120 mg) (Riamet®) (8;9;10)

1.8.3. RESISTANCE DES PLASMODIUM.

Le seul vrai problème est constitué par la résistance de *P. falciparum* aux schizonticides sanguins. On verra apparaître une résistance à la chloroquine qui constitue le problème de loin le plus gênant, car ce médicament n'a pas son pareil quant à la sécurité d'emploi, la facilité d'administration et le coût modeste.

Elle existe en Asie, du Vietnam à l'Inde et de la Malaisie à la Nouvelle-Guinée. En Afrique au sud du Sahara, la résistance est apparue partout mais elle est moins marquée à l'ouest. En Amérique du Sud, elle existe par endroits, dans la plupart des pays où le paludisme sévit (figure 7).

Apparaît aussi une résistance à la quinine, surtout en Asie où il est nécessaire d'augmenter les doses et d'y associer les tétracyclines pour venir à bout de certains accès cliniques. Dans beaucoup de régions d'Afrique aussi, les doses de quinine habituelles ne suffisent plus.

Une résistance aux antifoliques existe aussi partout par petits foyers et survient très rapidement après utilisation sur large échelle de la pyriméthamine ou des biguanides.

Le résultat le plus inquiétant est l'observation d'isolats de Guyane française présentant une résistance très élevée aux dérivés de l'artémisinine. Ces premiers cas de résistance in vitro à l'artémisinine sont de mauvais augures, les dérivés de l'artémisinine constituant la pierre angulaire de la plupart des associations médicamenteuses préconisées à l'heure actuelle. (2)

En 2009, les systèmes de surveillance et les recherches soutenus par l'OMS pour surveiller l'efficacité des antipaludiques dans les pays fournissent actuellement de nouvelles preuves de l'émergence de plasmodies résistantes à l'artémisinine le long de la frontière séparant le Cambodge de la Thaïlande. (Weekly Epidemiological Record Bulletin, 13 March 2009, vol. 84, 11/12)

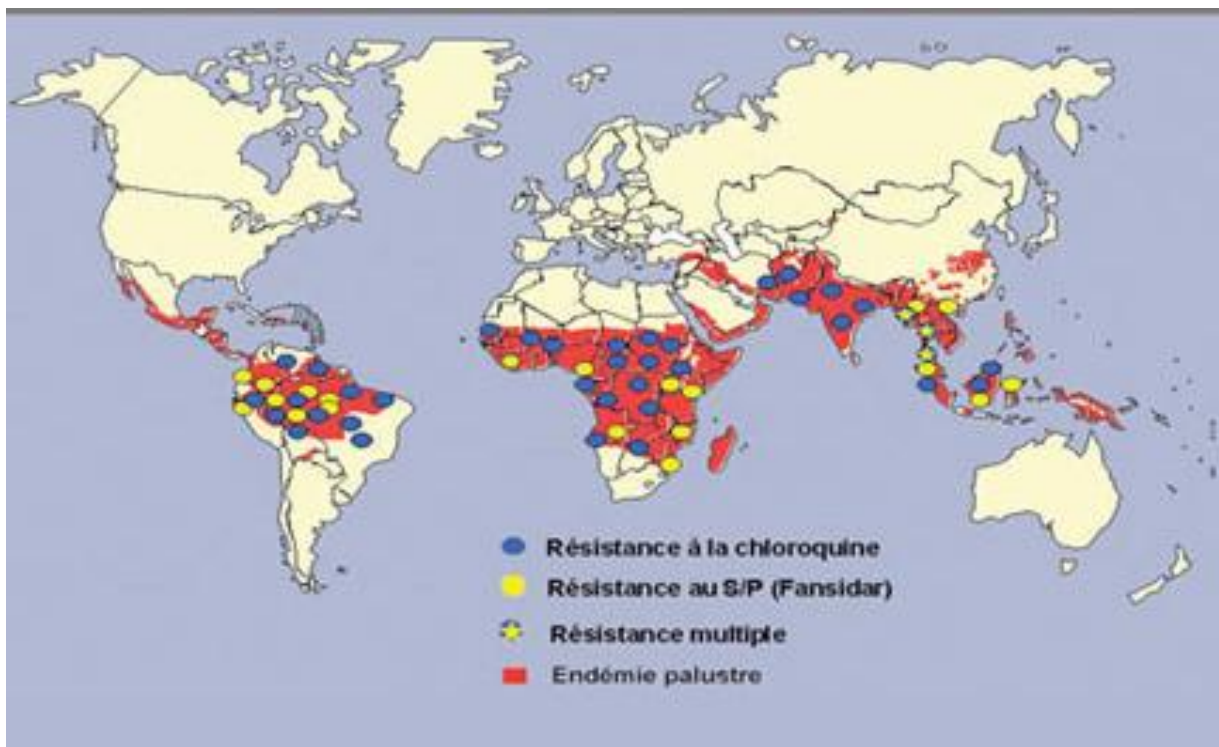


Figure 7 : les zones de forte résistance de *Plasmodium falciparum* dans le monde. (Source : www.rollbackmalaria.org)

1.9. PRÉVENTION.

Les méthodes utilisées pour empêcher la maladie de se répandre, ou pour protéger les habitants des zones endémiques, incluent la prophylaxie par la prise de médicaments, l'éradication des moustiques et la prévention des piqûres de moustiques.

Pour que le paludisme puisse exister de façon continue à un endroit, il faut une combinaison de facteurs : forte densité de population, fort taux de transmission des humains aux moustiques et réciproquement. Si un de ces facteurs diminue, le parasite finit par disparaître, comme en Amérique du Nord et en Europe. Inversement, le parasite peut être réintroduit dans une région et y survivre si ces facteurs sont réunis.

Certains chercheurs affirment que la prévention du paludisme serait plus efficace financièrement que son traitement à long terme ; mais les frais à engager pour cela sont trop importants pour les plus pauvres. L'économiste Jeffrey Sachs estime ainsi que le paludisme pourrait être contrôlé avec 3 milliards de dollars US par an.

Afin d'atteindre les objectifs du millénaire pour le développement, l'argent actuellement alloué à la lutte contre le Sida devrait être réaffecté à la prévention du paludisme, ce qui bénéficierait davantage à l'économie africaine.

Certains pays comme le Brésil, l'Érythrée, l'Inde ou le Viet Nam ont réussi à réduire le fléau du paludisme. L'analyse de ces programmes montre que de nombreux facteurs ont dû être réunis pour lutter avec succès contre la maladie, qu'il s'agisse des financements, de l'action de l'État et des ONG, ou de l'action concrète des travailleurs sociaux. (1 ; 3)

Schémas prophylactiques

Outre la protection contre les moustiques (moustiquaires imprégnées d'insecticides, insecticides en spray dans la maison, répulsifs antimoustiques et fumigations) qui est la mesure de prévention la plus sûre, la prise d'une chimioprophylaxie reste recommandée pour les voyageurs et les immigrants non immuns entrant dans une région endémique.

Aucun schéma n'offre une sécurité totale à cause de la résistance de *P. falciparum* vis-à-vis des antipaludiques utilisables au long cours (prix, compliance, innocuité). Une mise à jour des recommandations détaillées par pays est effectuée chaque année dans le Bulletin Épidémiologique hebdomadaire publié par l'OMS.

La prophylaxie dépendra de la région concernée (il faut distinguer l'Afrique... et le reste du monde) et est basée sur l'évaluation du rapport bénéfice/risque.

5 possibilités (pour les séjours de moins de 3 mois) :

- Chloroquine ou Nivaquine® (adultes et enfants)
- Chloroquine + proguanil (Paludrine 100 mg) : (adultes et enfants, tolérance moyenne et problème de résistance qui pourrait donner lieu à une « non recommandation »)
 - Méfloquine (Lariam) (adultes et enfants, attention aux antécédents neuro-psychiques, convulsions... cas de suicides répertoriés, tolérance moyenne)
 - Atovaquone + proguanil (Malarone) (action causale, bonne tolérance mais coût élevé)
 - Cyclines (Doxypalu) (contre-indiqué pendant la grossesse et chez l'enfant et problème de photosensibilisation)

Prophylaxie des expatriés/séjours prolongés :

Par sa contrainte, son coût ou encore sa tolérance, cette prophylaxie pose des problèmes complexes.

L'utilisation de Lariam® est possible mais le coût est élevé.

Il existe deux situations « endémo-géographiques » :

en Asie, ou en zone urbaine de l'Amérique latine, le risque de transmission est faible à très faible et la chimio-prophylaxie n'est donc pas indiquée au long terme.

en Afrique sub-saharienne, le risque palustre est très important, par conséquent, la mise en place d'un traitement au long cours est conseillée, on prescrit la chloroquine associée à proguanil (seule prophylaxie conseillée pendant la saison des pluies) ou de la méfloquine.

On n'entreprend pas de chimioprophylaxie ou de traitement au coup par coup.

Chez les femmes enceintes et les jeunes enfants, l'association chloroquine/proguanil est un impératif. (8 ; 11)

1.9.1. LES MOYENS DE COMBATTRE LES MOUSTIQUES.

On peut combattre le vecteur du paludisme par plusieurs moyens de prévention, qui peuvent s'avérer efficaces s'ils sont bien mis en œuvre.

Le véritable problème de cette prévention est le coût très élevé des traitements pour les populations touchées. En effet, elle peut être efficace chez les voyageurs, mais les pays en voie de développement, qui sont les principales victimes de cette maladie, peinent à organiser des actions très efficaces.

On peut donner pour preuve l'exemple de l'île de la Réunion où le paludisme sévissait comme dans les autres îles de la région (Madagascar et île Maurice) notamment. La Réunion étant un territoire français d'outre-mer, le problème du coût trop élevé restait secondaire et on a pu éradiquer la malaria de cette île sans difficulté.

Deux modes de prévention sont appliqués dans les pays concernés. Ils visent d'une part à protéger les populations contre les piqûres de moustiques et, d'autre part, à éliminer ces derniers par la mise en place de moyens divers. Le but principal de cette prophylaxie est de limiter la population de moustiques vecteurs de la maladie et ainsi de tenter d'éradiquer ce fléau.

Dans les années 1960, la principale méthode utilisée pour éradiquer les anophèles femelles était l'utilisation massive d'insecticides (le plus utilisé étant le DDT (Dichloro-Diphényl-Trichloréthane)). Cette méthode porta ses fruits dans de nombreuses régions où le paludisme fut totalement éradiqué. Malheureusement, l'utilisation intensive du DDT a favorisé la sélection de moustiques résistants. Cette résistance a été nommée KDR (Knock

Down Resistance : résistance à l'effet de choc). En outre, le DDT par sa rémanence peut engendrer des intoxications dans la population.

Pour remplacer le DDT, qui s'avère dangereux et de moins en moins efficace, des moyens alternatifs ont été déployés afin de combattre le vecteur du paludisme :

- des mesures d'assainissement : assèchement des marais, drainage des eaux stagnantes où se développent les larves des anophèles ;
- lutte anti-larvaire par épandage de pétrole et utilisation d'insecticides solubles répandus à la surface des eaux stagnantes, pour tenter de limiter les naissances d'anophèles ;
- utilisation d'insecticides à petite échelle : pulvérisation d'insecticides intradomiciliaires (pyréthrinaïdes) dans les habitations (chambres à coucher, imprégner les moustiquaires de pyréthrinaïde...) ;
- recours à des poissons (tilapias, guppys, gambusies, Aphanis) qui mangent les larves de moustique;
- dispersion de mâles anophèles stériles dans la nature;
- interventions génétiques sur les espèces vectrices.

Ces mesures ne sont efficaces que sur un territoire limité. Il est très difficile de les appliquer à l'échelle d'un continent tel que l'Afrique.

Dans une moindre mesure, il est possible d'éviter les piqûres d'anophèles par des mesures mécaniques, physiques et chimiques : rappelons avant tout que l'Anophèle a une activité nocturne, commençant à piquer à la tombée de la nuit, et se reposant la journée dans les habitations.

- installation de moustiquaires imprégnées d'insecticide pour dormir à l'abri des piqûres éventuelles ;
- installation de grillage moustiquaire aux fenêtres.
- installation d'air conditionné dans les habitations pour faire baisser la température ;
- port de vêtements amples et longs après le coucher du soleil ;
- éviter les promenades après le coucher du soleil ;
- application de crème répulsive sur la peau ou les vêtements au coucher du soleil ;

Le dernier moyen mis en application est beaucoup plus ciblé. En effet il ne s'applique qu'aux femmes enceintes, et il a pour but de permettre aux nourrissons de naître en bonne santé et non avec un poids trop faible ou encore atteint de nombreuses maladies comme le paludisme placentaire, l'anémie grave et la malformation du bébé.

Afin de prévenir et d'empêcher de graves complications, une prise en charge globale qui comporte une prévention de l'infection palustre et la protection sanitaire a été mise en place. Ces actions ont pour but de limiter les infections et leurs conséquences pouvant être très graves pour l'enfant et pour la mère. Il s'agit notamment de l'utilisation d'antipaludéens, soit à titre prophylactique, soit comme traitement intermittent, et du recours éventuel aux moustiquaires imprégnées d'insecticide.

Il a été prouvé que dans les zones d'endémies, une prévention efficace du paludisme pendant la grossesse permet de réduire l'incidence d'anomalies comme un faible poids à la naissance ou une anémie maternelle grave (diminution de la concentration en hémoglobine du sang en dessous de 0,12 g/ml).

L'application de ces quelques règles suffirait à faire baisser considérablement le nombre de personnes touchées par cette maladie et ainsi le nombre de victimes, mais le manque de moyens entrave leur application. De nombreux habitants n'ont même pas les moyens de se procurer des moustiquaires, susceptibles de réduire les risques d'infections. (8)

1.9.2. LA PROPHYLAXIE.

Afin de prévenir toute contamination chez les touristes se rendant dans des pays où sévit le paludisme, les chercheurs ont mis en place une technique prophylactique.

Cette technique consiste à utiliser un arsenal thérapeutique afin d'éviter l'infection en cas de pénétration du parasite dans l'organisme.

Il est très dangereux de partir en zone de transmission intense de paludisme sans prise régulière d'un traitement préventif, en particulier pour les enfants et les femmes enceintes qui ont un risque accru d'accès de paludisme grave.

Mais en raison de l'accroissement de la pharmacorésistance parasitaire et des effets secondaires propres aux différents produits, il est de plus en plus difficile d'établir des directives chimioprophylactiques (recherche de médicament de façon rationnelle).

Le touriste doit, avant de s'aventurer dans des pays touchés par ce fléau, consulter son médecin qui lui indiquera les contre-indications éventuelles des antipaludéens. Et pour qu'il n'y ait aucune disparité, il serait souhaitable de voir apparaître une harmonisation des directives chimioprophylactiques nationales et internationales.

Les médicaments antipaludéens ne garantissent pas une protection absolue contre l'infection et il est aussi important de se protéger des piqûres de moustiques (moustiquaires, produits antimoustiques) car même si un traitement adapté a été correctement suivi, il est possible de faire une crise de paludisme, parfois d'apparition tardive.

Selon un rapport français du Centre national de référence pour l'épidémiologie du paludisme d'importation et autochtone, fondé sur une étude auprès des 8 000 Français ayant contracté la maladie en l'an 2000, près de la moitié n'avait eu recours à aucune prophylaxie.

En 2002, seuls 10 % des voyageurs français en déplacement dans une zone à risque ont suivi un schéma thérapeutique correct. En 1990, ce pourcentage était d'un tiers : cela explique, en partie, la forte recrudescence des cas de paludisme en France, cas atypique en Europe, où la contamination est stable ou en régression. (11)

1.9.3. DES DÉFENSES POUR L'HÔTE : L'IMMUNITÉ.

Immunité naturelle :

Etat réfractaire d'un hôte vis-à-vis d'un parasite, relevant de la constitution génétique de l'hôte (incapacité de *P. berghei* du rongeur à se développer dans les globules rouges de l'homme par exemple).

Immunité acquise de type "prémunition" :

Etat immunitaire (permanent en zone endémique), conférant une protection relative acquise progressivement (2 à 6 ans), provoqué et entretenu par la présence du parasite dans l'organisme de l'hôte. Il s'estompe après le départ de la zone d'endémie, peu après la disparition des parasites (12 à 24 mois).

Au cours de l'infection plasmodique, le système immunitaire est tenu de réagir contre tous les antigènes relargués par le parasite. La majorité des antigènes n'induisent pas d'immunité protectrice: les anticorps concernés sont des témoins d'un contact récent avec le parasite, ni plus ni moins.

Les antigènes qui induisent la protection sont situés à la surface du parasite. Ils sont spécifiques à chaque stade, d'où l'absence de protection croisée entre immunité anti-sporozoïte, anti-mérozoïte et anti-gamétocyte.

De plus, il est étonnant de constater qu'une protection efficace contre les formes asexuées du sang n'est acquise, en zone endémique, qu'après plus de 6 ou 8 ans de contact avec les parasites. C'est en effet vers cet âge que les densités parasitaires baissent de manière significative chez les enfants pourtant continuellement infectés.

Une explication plausible serait que les parasites qui se succèdent chez l'enfant, suite aux multiples inoculations par le moustique, présentent une diversité génétique énorme qui se traduit au niveau des schizontes sanguins par des contenus antigéniques différents (polymorphisme antigénique). Le sporozoïte est en effet un stade hybride résultant de la fécondation de deux gamètes pouvant avoir des origines différentes.

Mécanismes de protection :

Les anticorps participent à la protection aussi bien que les cellules T et les monocytes sécréteurs de monokines.

La formation de complexes antigènes-anticorps au niveau de la CSP (Circumsporozoïte Surface Protéine) facilite la phagocytose des sporozoïtes et leur destruction dans les macrophages.

Pour le stade hépatique, ce sont les lymphocytes T cytotoxiques qui sont responsables de la cytotoxicité sur l'hépatocyte infecté exprimant l'antigène parasitaire en surface par l'intermédiaire du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I.

L'immunité anti-sporozoïte comme l'immunité anti-mérozoïte pourrait agir indirectement sur le parasite et sa cellule hôte, respectivement au début et à la fin du développement du schizonte, au moment où les antigènes spécifiques de ces stades sont exprimés par l'hépatocyte infecté: sécrétion de cytokines, particulièrement l'interféron γ (IFN γ) et l'interleukine 6 (IL6).

Pour le stade érythrocytaire, c'est une opsonisation qui a lieu au niveau de la surface des mérozoïtes. Elle neutralise les sites de reconnaissance cellulaire et interfère donc avec le mécanisme d'invasion des érythrocytes.

Les parasites intracellulaires pourraient être atteints par les lymphokines et les globules rouges infectés peuvent également subir l'opsonisation par les anticorps reconnaissant les antigènes parasitaires exposés en surface.

La reconnaissance des antigènes de surface des gamétocytes et leur opsonisation les rend inaptes à la fécondation.

Immunité congénitale :

Les accès graves de paludisme s'observent rarement chez le nouveau-né d'une mère vivant en région d'endémie, alors qu'il est soumis, dès sa naissance, aux piqûres des anophèles. Toutefois, une parasitémie peut apparaître.

Cette protection s'explique par le fait que le nouveau-né reçoit les anticorps protecteurs (IgG) de sa mère par la voie transplacentaire, puis par le colostrum et même par le lait (très peu).

Ces anticorps acquis passivement par le nourrisson, sans qu'aucune cellule de son organisme ne soit capable de les synthétiser, sont métabolisés progressivement et bientôt, l'enfant ne recevant plus l'aide maternelle dans ce domaine, sera soumis au risque d'infection aiguë par manque d'un système de défense spécifique.

A ce moment, on observe simultanément chez le nourrisson, une baisse du taux des IgG anti-plasmodium et une augmentation de son taux d'IgM spécifiques, ceux-ci étant les premiers à apparaître, synthétisés par l'enfant en présence d'une stimulation antigénique (présence du parasite).

Concrètement, l'acquisition de l'immunité se traduit au plan clinique, hématologique et épidémiologique.

Sur le plan clinique, on observe une atténuation des manifestations, en nombre et en intensité, en particulier par la suppression du risque des accès pernicioeux ; c'est ce qui se produit dans les régions de paludisme « stable », où les adultes et les adolescents sont pratiquement exempts de ce risque. On observe également une disparition progressive des splénomégalies, à partir du groupe d'âge de 6 à 9 ans, ainsi qu'une « élévation du seuil de latence ». Malgré un nombre appréciable de parasites dans le sang, l'individu ne présente pas de manifestations cliniques.

Sur le plan hématologique apparaissent un abaissement de la « densité parasitaire » moyenne chez les adolescents et les adultes et une raréfaction des formes sexuées, qui amène un abaissement de l'indice gamétocytaire à partir du groupe d'âge des « grands enfants » de plus de 9 ans.

Sur le plan épidémiologique, on constate que lorsque les anophèles sont infestés avec des gamétocytes ingérés en même temps que du plasma provenant de sujets prémunis, ces gamétocytes donnent un plus petit nombre d'oocystes que lorsque ces gamétocytes sont ingérés avec du plasma de porteurs non immuns.

1.9.4. DES DÉFENSES POUR L'HÔTE : LES FACTEURS GÉNÉTIQUES.

Des facteurs génétiques peuvent protéger contre le paludisme. La majeure partie de ceux qui ont été décrits sont associés aux globules rouges, dont voici quelques exemples :

- La drépanocytose (du grec drepanos "faucille" en regard avec la forme allongée qu'ont un certain nombre d'hématies) aussi appelée hémoglobinoS, sicklémie, ou anémie falciforme: une modification dans la chaîne β de l'hémoglobine entraîne une déformation des globules rouges, ce qui produit des hétérozygotes qui protègent mieux contre le paludisme. Les hématies sont déformées et l'hémoglobine cristallise, ce qui empêche le parasite de rentrer dans le globule rouge. La prévalence de la drépanocytose (HbA/HbS) est élevée dans les populations africaines soumises à une forte pression du paludisme en raison de la résistance qu'elle procure contre les accès graves de la maladie.

- La thalassémie ou anémie héréditaire : le sujet est porteur du gène SS entraînant une modification des taux de synthèse des chaînes de globines avec pour conséquence une mauvaise circulation du sang et une fatigue constante.

- Le déficit génétique de G6PD (Glucose-6-phosphate déshydrogénase) qui est une enzyme antioxydante protégeant normalement contre les effets du stress oxydatif dans les globules rouges donne une protection accrue contre le paludisme grave.

- Le HLA-B53 est associée à un faible risque de paludisme grave. Cette molécule CMH (complexe majeur d'histocompatibilité) de classe I présente dans le foie est un antigène des lymphocytes T contre le stade sporozoïte. Cet antigène, encodé par IL4 (Interleukine-4), produit par les cellules T, favorise la prolifération et la différenciation de la production d'anticorps-cellules B. Une étude des Peuls (une ethnie présente dans une quinzaine de pays, en Afrique de l'Ouest, mais également au Tchad, en République centrafricaine et au

Soudan) du Burkina Faso, qui ont moins de deux attaques de paludisme dans leur vie avec des niveaux plus élevés d'anticorps antipaludiques que les groupes ethniques voisins, a constaté que l'allèle IL4-524 T était associé à des niveaux élevés d'anticorps contre le paludisme, ce qui soulève la possibilité que ce pourrait être un facteur d'augmentation de la résistance au paludisme.

- Les sujets dont les érythrocytes sont dépourvus de certains antigènes de groupes sanguins, sujets FY(-1,-2,-3,-6) dans la classification des systèmes immunogènes FY (anciennement système Duffy), ne peuvent être contaminés par *P. vivax* ni par *P. knowlesi* (de découverte récente et apparenté à *P. malariae*). Il s'agit là d'un exemple d'avantage sélectif de la population ouest-africaine, où ce groupe sanguin est très fréquent.

D'autres facteurs génétiques existent dont certains sont impliqués dans le contrôle de la réponse immunitaire. (1)

1.10. LE CONTRÔLE DU PALUDISME.

Objectifs :

La diminution de la mortalité est obtenue par une chimiothérapie correcte, après un diagnostic posé promptement.

La diminution de la morbidité est obtenue par une chimioprophylaxie chez les groupes à risques, sensibles à l'infection (femmes enceintes, immigrants). Les enfants sont aussi à risque mais pour eux la distribution des doses prophylactiques est difficile à organiser et la période pendant laquelle ils devraient recevoir le traitement est trop longue.

La diminution de la transmission ne peut être obtenue que par la lutte contre les anophèles: réduction de la densité, de la longévité, du contact homme-vecteur ou les trois combinés. (1 ;8)

Stratégies :

En fonction des circonstances, du milieu écologique et des possibilités financières, on sera amené à sélectionner des ensembles de méthodes cohérentes, selon le schéma présenté dans la figure 8.

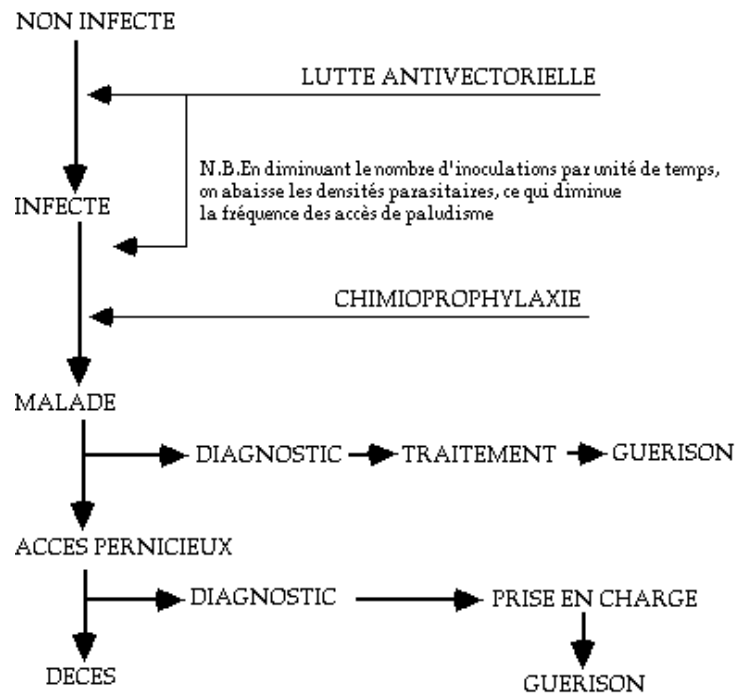


Figure 8 : stratégie de contrôle du paludisme.

Application :

La mise en application des mesures choisies sera du ressort des Services de Santé généraux. Certaines actions sont du ressort de services spécialisés. La participation de la population est requise pour la généralisation des moustiquaires imprégnées de deltaméthrine: achat des moustiquaires et leur réimprégnation bisannuelle.

1.11. DANS LE FUTUR, QUELLES SOLUTIONS ?

Le paludisme est chaque année responsable de plus de deux millions de décès dans le monde.

Les difficultés économiques empêchent certains pays de pouvoir lutter efficacement contre cette maladie ; de plus, l'apparition d'anophèles résistants aux insecticides mais aussi de souches de *P. falciparum* résistants à certains traitements relance la recherche de nouvelles molécules actives, mais les résultats sont assez décevants.

Devant ce triste bilan, une solution s'affiche : la création d'un vaccin contre le paludisme.

Jamais la recherche n'a vu autant de partenariats publics-privés se former dans le seul but de créer un tel vaccin d'ici quelques années.

Mais le développement d'un vaccin contre le paludisme reste un énorme défi scientifique, technique, financier et politique.

Le plasmodium est un parasite fortement complexe, avec un cycle de vie à plusieurs étapes, pendant lequel le parasite présente des antigènes multiples qui montrent une variabilité significative.

L'entrave principale pour le développement d'un vaccin est le choix de(s) l'antigène(s) à inclure.

Ce procédé est souvent lié à l'utilisation de modèles animaux imparfaits, testés in vitro avec des restrictions significatives et des estimations séroépidémiologiques de réponses immunitaires naturellement acquises chez les hommes et leur relation vis-à-vis du risque de l'infection par la malaria ou la maladie.

Cependant, nous n'avons toujours aucune mesure de substitut de protection pour le paludisme.

2. UN VACCIN CONTRE LE PALUDISME : **UN LONG CHEMIN SEMÉ D'EMBUCHES.**

2.1. QU'EST-CE QU'UN VACCIN ?

La vaccination est un procédé consistant à introduire un agent extérieur dans un organisme vivant afin de créer une réaction immunitaire positive contre une maladie infectieuse. Le principe actif d'un vaccin est un antigène destiné à stimuler les défenses naturelles de l'organisme. Il existe quatre types de vaccins selon leur préparation :

- agents infectieux inactivé :

Ils produisent des vaccins immunisants par le pouvoir antigénique persistant des germes. L'emploi de ces vaccins nécessite des injections répétées et des rappels pour relancer l'immunité.

- agents vivants atténués :

Ils entraînent une réaction immunitaire similaire à celle que produirait l'infection de l'organisme. Une seule injection est suffisante.

- sous-unités d'agents infectieux :

Ils sont constitués de protéines antigéniques massivement produites par génie génétique. Ces molécules sont administrées avec des adjuvants qui stimulent leur pouvoir immunogène.

- toxines inactivées :

Elles sont obtenues par modification chimique et physique de la toxine responsable de la maladie, sont utilisées lorsque la toxine d'un germe est l'agent pathogène principal. L'immunité ne concerne que la toxine. (12)

Le but principal des vaccins est d'induire la production par l'organisme d'anticorps, agents biologiques naturels de la défense du corps vis-à-vis d'éléments pathogènes identifiés.

Un vaccin est donc spécifique à une maladie mais pas à une autre.

Cette production d'anticorps diminue progressivement dans un délai plus ou moins long, fixant ainsi la durée d'efficacité du vaccin. Elle est mesurable et cette mesure peut être utilisée dans certains cas pour savoir si le sujet est vacciné efficacement. (13)

2.2. UN VACCIN CONTRE LE PALUDISME EST-IL POSSIBLE ET QUE SERAIT UN VACCIN IDÉAL ?

2.2.1. POURQUOI UN VACCIN CONTRE LA MALARIA EST-IL SI DIFFICILE À DÉVELOPPER ?

Beaucoup de facteurs font que le développement d'un vaccin contre le paludisme est difficile et se transforme en véritable défi.

Premièrement, la taille et la complexité génétique du parasite signifient que chaque infection présente des milliers d'antigènes au système immunitaire humain. Comprendre lequel parmi tous ceux-là peut être une cible utile pour le développement d'un vaccin a été assez compliqué.

Plasmodium falciparum possède un grand génome de 23 Mo exprimant 5268 protéines putatives. Beaucoup de ces protéines exposent une variation allélique entre les espèces, ou un polymorphisme antigénique aux sites reconnus par l'anticorps ou par les lymphocytes T. Jusqu'à présent, seulement une poignée des 5300 antigènes cibles potentiels exprimés par *P. falciparum*, représentant moins de 0,3 % du génome, a été choisie comme cible vaccinale. (14)

Deuxièmement, le parasite passe par plusieurs stades dans un même cycle de vie, et chez l'hôte humain, il présente un sous-ensemble de molécules différentes pour combattre le système immunitaire à chacune de ces étapes.

L'approche traditionnelle pour développer des vaccins anti malarique s'est donc concentrée sur le ciblage d'une des étapes de développement du parasite, telle que l'étape pré-érythrocytique, asexuée (intra-érythrocytique) ou l'étape sexuelle. Les stratégies de vaccin pré-érythrocytiques aspirent à produire une réponse en anticorps capable de neutraliser les sporozoïtes en les empêchant d'envahir le foie, aussi bien que mettre à jour une réponse immune à médiation cellulaire capable d'interférer avec le cycle de multiplication intra-hépatique du parasite, comme par exemple en tuant les hépatocytes infectés par le parasite.

Ce type de vaccin serait idéal pour des voyageurs parce qu'il empêcherait l'apparition de n'importe quelle forme de maladie clinique. De plus, en diminuant la multiplication exponentielle des mérozoïtes, ce type de vaccin servirait surtout à diminuer l'impact de la maladie dans les pays endémiques.

Quant aux vaccins qui ciblent l'étape sexuelle du parasite, ils n'aspirent pas à empêcher la maladie ou l'infection chez l'individu vacciné, mais à empêcher ou diminuer la transmission du parasite à de nouveaux hôtes. On peut voir ce vaccin « bloqueur de transmission » comme un vrai vaccin altruiste. (15)

Troisièmement, le parasite a développé une série de stratégies qui lui permet de se confondre, de se cacher et de détourner le système immunitaire humain.

Finalement, il est possible d'avoir de multiples infections du paludisme, non seulement d'espèces différentes, mais également de souches différentes en même temps. (16)

2.2.2. EST-CE QU'UN VACCIN CONTRE LE PALUDISME EST FAISABLE ?

Trois découvertes spécifiques indiquent la faisabilité de développer un vaccin contre le paludisme.

La première est un modèle dans lequel des sporozoïtes irradiés ont été délivrés via des piqûres de moustique à des volontaires. Quand, par la suite, ces mêmes volontaires ont été exposés à des moustiques infectés, les volontaires étaient protégés.

La protection induite n'est pas spécifique de souche et dure au moins 9 mois. Ce type de vaccin, qui ne nécessite aucun adjuvant, mais seulement des sporozoïtes viables, capables de pénétrer dans les hépatocytes, mais incapable de s'y multiplier, serait idéal pour les voyageurs ou les situations épidémiques. Mais il est impossible de concevoir de mettre en place la logistique nécessaire pour vacciner en masse avec les centaines de piqûres requises pour induire la protection...

La deuxième est la protection naturelle qui s'installe graduellement chez les gens vivant dans des zones endémiques du paludisme : une immunité solide prévenant la mortalité et l'accès grave est acquise très rapidement, après un tout petit nombre d'infections, atout considérable pour un vaccin visant à réduire la mortalité et la morbidité grave, qui sont de première priorité en santé publique. L'immunité contre les formes non compliquées s'acquière plus lentement, après un grand nombre d'infections. Ce long apprentissage reflète probablement la nécessité pour le système immunitaire de contrôler un grand nombre de souches. (17)

La troisième découverte consiste en des expériences qui démontrent l'efficacité de transfert passif d'immunité : un transfert passif d'immunoglobulines prélevées chez des individus semi-immuns a permis le traitement de la malaria clinique (18).

Enfin, les expériences de Freund utilisant des extraits parasitaires de stades sanguins avec un adjuvant de son invention ont montré, au cours des années 1940, que l'on pouvait induire une immunité très solide dans un modèle de paludisme expérimental chez le singe. Elles ont même été parmi les premières vaccinations réussies contre le paludisme. (19)

De plus, l'immunisation avec des antigènes recombinants peut induire un blocage de la transmission. (18)

Ce faisceau d'arguments rend raisonnable l'espoir de mettre au point des vaccins : une réaction immunitaire qui protège contre la maladie est possible. Le défi est de définir ces segments de la réaction immunitaire qui sont exigés et les antigènes qui peuvent

produire une réaction immunitaire protectrice, développer ensuite des façons de fabriquer et de présenter sans risque ces antigènes au système immunitaire.

Pourtant la prudence est de règle, parce que le défi est important mais aussi parce qu'une des qualités requises, l'induction d'une immunité protectrice de longue durée, n'a encore été atteinte dans aucune vaccination expérimentale chez l'animal et dans aucun essai clinique.

La question de la durée de l'immunité protectrice est loin d'être une question secondaire, parce que même la protection acquise par les individus vivant en zone d'endémie semble être de courte durée. Elle a besoin d'être entretenue par des réinfections fréquentes, et elle est perdue en quelques années lorsque les sujets quittent une zone d'endémie.

Cela ne signifie pas bien sûr qu'une protection de longue durée ne puisse pas être induite par la vaccination, soit parce que l'immunité vaccinale serait différente de l'immunité naturelle, soit parce que les infections ultérieures auraient un effet de rappel, mais qui risque lui-même d'être de courte durée. (19)

2.2.3. A QUOI RESSEMBLERAIT UN VACCIN IDÉAL ?

Un vaccin idéal contre le paludisme devrait :

- être hautement efficace chez les enfants et les adultes ;
- être sûr et sans effets secondaires ;
- conférer une immunité à long terme sans rappel répété ;
- être facile à administrer dans le cadre de programmes d'immunisation existants et dans les calendriers vaccinaux ;
- ne pas interférer avec d'autres vaccins de la petite enfance ;
- être simple et accessible quant à sa fabrication ;
- être accessible pour de faibles ressources (tel que des vaccins de la petite enfance déjà inscrits dans des programmes d'immunisation nationaux).

De ce que nous savons aujourd'hui, les premières générations de vaccins contre le paludisme les plus probables :

- seront modérément efficaces pour prévenir la maladie et conçus pour une utilisation chez les enfants en bas âge ;
- seront sûrs et auront peu d'incidence en ce qui concerne les effets secondaires sérieux ;
- confèreront une immunité plus courte que les autres vaccins courants de la petite enfance ;
- pourront être administrés dans le cadre de programmes d'immunisation existants et dans les calendriers vaccinaux ;
- n'interféreront pas avec les autres vaccins courants de la petite enfance ;
- seront complexes et chers à la fabrication ;

- seront accessibles pour de faibles ressources avec l'aide de dons gouvernementaux, de fonds, et d'agences multilatérales. (20)

2.2.4. UN DÉFI ET DE NOMBREUSES DIFFICULTÉS...

Comme mentionné ci-dessus, plusieurs arguments suggèrent qu'un vaccin contre le paludisme est faisable. Mais même avec les progrès récents, le développement de ce type de vaccin s'avère toujours aussi complexe. Les scientifiques font face à d'innombrables défis et à d'innombrables difficultés :

- des difficultés théoriques
 - taille considérable du génome, 250 fois plus grand que celui des virus ou des bactéries
 - important polymorphisme génétique
 - cycle à plusieurs stades avec expression de différents gènes spécifiques de stade
 - parasites vivant dans les compartiments intra- et extracellulaires
 - parasites utilisant plusieurs stratégies pour échapper aux mécanismes de défense immunitaire de l'hôte
 - pas d'immunité stérile observée dans les populations vivant en zone d'endémie
 - mécanismes précis de protection dans les populations semi-immunes non connus
 - caractéristiques cliniques de la maladie différente selon les populations
 - quelle est la meilleure cible biologique ?
- des difficultés pratiques
 - pas de modèle animal satisfaisant
 - quel(s) stade(s) du cycle et quels antigènes choisir comme cible ?
 - quel type de vaccin et pour qui ?
 - faut-il combiner les antigènes ?
 - quel adjuvant, quel système de libération utiliser ?
 - comment combiner le vaccin antimalarique et la distribution des vaccins du Programme Étendu de Vaccination dans les zones d'endémie ?
 - quelle est l'efficacité minimale requise pour qu'un vaccin soit utile en terme de santé publique.
 - qui est prêt à payer pour la recherche vaccinale à long terme ?
- des difficultés éthiques
 - quelle est la justification pour mener des recherches médicales dans des pays qui n'ont pas d'argent pour assurer les soins de santé primaires ?
 - quels comités d'éthique consulter et quelles sont leurs compétences ?
 - quel est le rapport bénéfice-risque d'un essai vaccinal et comment aborder les différences de perception de la maladie ?
 - comment délivrer l'information et obtenir le consentement éclairé dans différentes régions endémiques, par exemple, validité du concept sur un plan transculturel ?
 - quel est le placebo approprié (adjuvant simple ou autre vaccin efficace) ?
 - comment manager les échecs et le risque d'une modification de l'équilibre épidémiologique ?
 - comment assurer le bénéfice premier aux populations participant aux études ?

Pour tenter de comprendre l'avancée des vaccins antimalariques, nous allons explorer quelques uns des problèmes rencontrés, ceux qui nécessitent une attention toute

particulière si le développement du vaccin veut connaître une fin fructueuse d'ici peu de temps.

2.3 UNE FORMIDABLE COMPLEXITÉ BIOLOGIQUE.

Les problèmes théoriques résident principalement dans la complexité du parasite et de son cycle ; des mécanismes effecteurs immunologiques distincts sont responsables de l'élimination de différentes formes du parasite.

Malgré des investigations consciencieuses et complètes de l'immunité humorale et cellulaire des volontaires engagés dans les études cliniques, aucun indicateur de protection clinique n'a pu être observé jusqu'à maintenant. Ce manque de connaissance empêche la sélection d'antigènes et d'adjuvants définis et oblige les chercheurs à tester de manière extensive de nombreux vaccins candidats potentiels, à la fois en laboratoire et sur le terrain.

La révélation de l'immunité protectrice contre la malaria semble être réalisable, comme jugée par le fait qu'une immunité naturelle se développe progressivement avec une exposition fréquente et que cette immunité peut être transmise par un transfert passif d'anticorps. Le progrès dans le développement d'un vaccin est cependant resté lent. C'est en partie en raison du fait que le parasite *Plasmodium* a plus de 5200 gènes qui pourraient coder pour un antigène protecteur, rendant l'identification de candidats antigènes complexe, rendu encore plus difficile par le fait que ces antigènes sont exprimés différemment pendant le cycle de vie du parasite et que beaucoup d'antigènes montrent un haut degré de variabilité.

De plus, les mêmes antigènes peuvent être développés dans des types différents de vaccins et de différentes façons. Ainsi, plus de 50 % des 75 candidats vaccins en développement actif aujourd'hui, sont basés sur juste trois antigènes qui ont été clonés il y a 20 ans : la protéine circumsporozoite (CSP), la protéine superficielle mérozoïte (MSP) et l'antigène de la membrane apicale 1 (AMA1).

L'absence de compréhension quant à la nature de l'immunité protectrice ajoute à la complexité de développement de vaccins comme la formulation en antigènes du parasite purement empirique et un antigène potentiellement protecteur peuvent échouer dans des essais cliniques parce que la formulation employée peut inciter une réaction immunitaire inopportune ou inadéquate. Comprendre les mécanismes immunologiques est donc primordial pour la confection d'un vaccin efficace. (15)

Au niveau du parasite, une diversité antigénique, phénotypique et moléculaire complique les choses. Quatre éléments majeurs participent à la diversité des populations parasitaires : un polymorphisme chromosomique important, un polymorphisme allélique, la reproduction sexuée et la variation antigénique.

1. Le polymorphisme chromosomique :

Les régions subtélomériques des chromosomes sont le site de fréquents réarrangements génétiques chez de nombreux organismes et *P. falciparum* ne déroge pas à la règle. La délétion de l'extrémité des chromosomes est un événement qui contribue de façon significative au polymorphisme de taille des chromosomes. Des variations sont observées au cours de la multiplication asexuée des parasites ou in vitro, mais également lors de la reproduction sexuée. L'instabilité de l'extrémité des chromosomes est en partie imputée à la présence de motifs répétés. Ces répétitions sont le site privilégié de recombinaisons intra- et interchromosomiques à l'origine du polymorphisme de taille des chromosomes. Exemple gratia, lors du croisement HB3/Dd2 ; il y eut une transposition d'un segment de 100kb entre deux chromosomes hétérologues.

2. Un polymorphisme allélique étendu:

La diversité antigénique de *P. falciparum* est le reflet d'un polymorphisme allélique important. Plusieurs études et techniques ont permis de mettre en évidence le polymorphisme allélique, que ce soit par RFLP ou par typage génétique d'isolats de zone d'endémie palustre par PCR ainsi que le séquençage de plusieurs allèles de certains gènes comme MSP-1. Chez *P. falciparum*, de nombreux antigènes codés par des gènes en copie unique possèdent un très grand nombre d'allèles, pouvant, parfois, être regroupés en famille alléliques de séquences primaires très différentes (comme MSP-1 et MSP2...).

Les bases structurelles de ce polymorphisme sont multiples. Il y a, bien sûr, les mutations ponctuelles. Cependant *P. falciparum* utilise de manière intensive d'autres mécanismes afin de générer une telle diversité. Beaucoup d'antigènes comportent des séquences répétées ; suivant les allèles, celles-ci peuvent varier en nombre (Antigène S, Pf11.1, GBP 130, CSP), en taille (Antigène S) ou même de cadre de lecture. Enfin la dégénérescence des répétitions assure un degré de diversité supplémentaire.

Les trois familles alléliques de séquences primaires différentes sont représentées. Chacune d'elles varie en fonction du nombre de répétitions, certaines répétitions sont dégénérées. On peut noter un certain nombre de délétions, et de mutations ponctuelles.

La reproduction sexuée :

La reproduction sexuée du parasite chez l'Anophèle constitue une étape obligatoire du cycle biologique du parasite et contribue à la diversité génétique des populations de *P. falciparum*. Les croisements expérimentaux effectués indiquent que des « crossing over » méiotiques ont lieu. Ceux-ci, conjugués à l'effet de la ségrégation aléatoire des chromosomes, permettent un réassortiment des combinaisons d'allèles et l'émergence de nouveaux génotypes. Exemple gratia, des recombinaisons intragéniques sont à l'origine de la diversification allélique de MSP-1. Il a été montré, à l'aide d'anticorps monoclonaux, que ces recombinaisons intragéniques aboutissaient à un réassortiment des épitopes de ces allèles hybrides.

De plus, l'analyse de la ségrégation de 901 marqueurs génétiques, lors du croisement des clones HB3 et Dd2, a permis d'estimer la distance génétique de recombinaison de *P. falciparum* à 17 kb par centiMorgan contre 5kb et 1Mb pour la levure et l'homme, respectivement ce qui est une fréquence de recombinaison élevée pour un organisme dont la taille du génome haploïde est de 20Mb ; d'autant qu'elle n'a été évaluée qu'à partir d'un seul croisement, contrairement aux milliers de croisements effectués chez la levure.

Effet de l'haploïdie :

Le fait que le parasite soit sous forme haploïde (et particulièrement chez son hôte intermédiaire que l'on peut considérer comme une niche écologique aux caractéristiques variables et où la pression de sélection est extrêmement importante) permet l'expression rapide, voire immédiate, d'un nouveau phénotype, généré par l'un des mécanismes décrits ci-dessus et l'émergence rapide d'une nouvelle population mieux adaptée à son environnement.

La variation antigénique :

La forte pression de sélection exercée par la diversité de l'hôte, a contraint le parasite à une meilleure adaptabilité (au sens de meilleur potentiel d'adaptation) et a sélectionné la mise en place d'un processus de variation phénotypique programmée : la variation antigénique. Celle-ci affecte la membrane de l'érythrocyte infecté. L'antigène variant de *P. falciparum* est une adhésine impliquée dans la séquestration des érythrocytes parasités dans les capillaires profonds : PfEMP1. La variation antigénique chez *P. falciparum* a trois fonctions : une fonction d'échappement au système immunitaire, au système d'immunorégulation, et une fonction d'adaptation aux récepteurs endothéliaux de l'hôte. (4)

Les antigènes de Plasmodium :

Une série de protéines antigéniques ont été isolées de *P. falciparum* au cours de son cycle et définies biochimiquement. Elles ont fait l'objet d'un inventaire poussé en vue de la production d'un vaccin.

Une protéine, appelée « circumsporozoïtique » (ou circumsporozoïte protein, CSP), située à la surface de la membrane externe, domine le stade sporozoïte. Elle comporte 412 acides aminés, dont 40% sont des séquences répétées en tandem. L'épitope le plus immunogène est un petit peptide de quatre acides aminés : asparagine (N), alanine (A), asparagine (N) et proline (P), soit la séquence NANP. Elle a été essayée comme vaccin et utilisée comme antigène pour les tests sérologiques. La CSP ne se retrouve pas dans les autres stades du plasmodium.

Pour évoquer la variabilité qui existe d'un plasmodium à l'autre, il est intéressant de noter que la structure du peptide épitope (CSP) des sporozoïtes de *P. vivax* diffère de celui de *P. falciparum* par les acides aminés qui le composent : arginine (R), acide aspartique (D), glycine (G), glutamine (Q), proline (P), alanine (A).

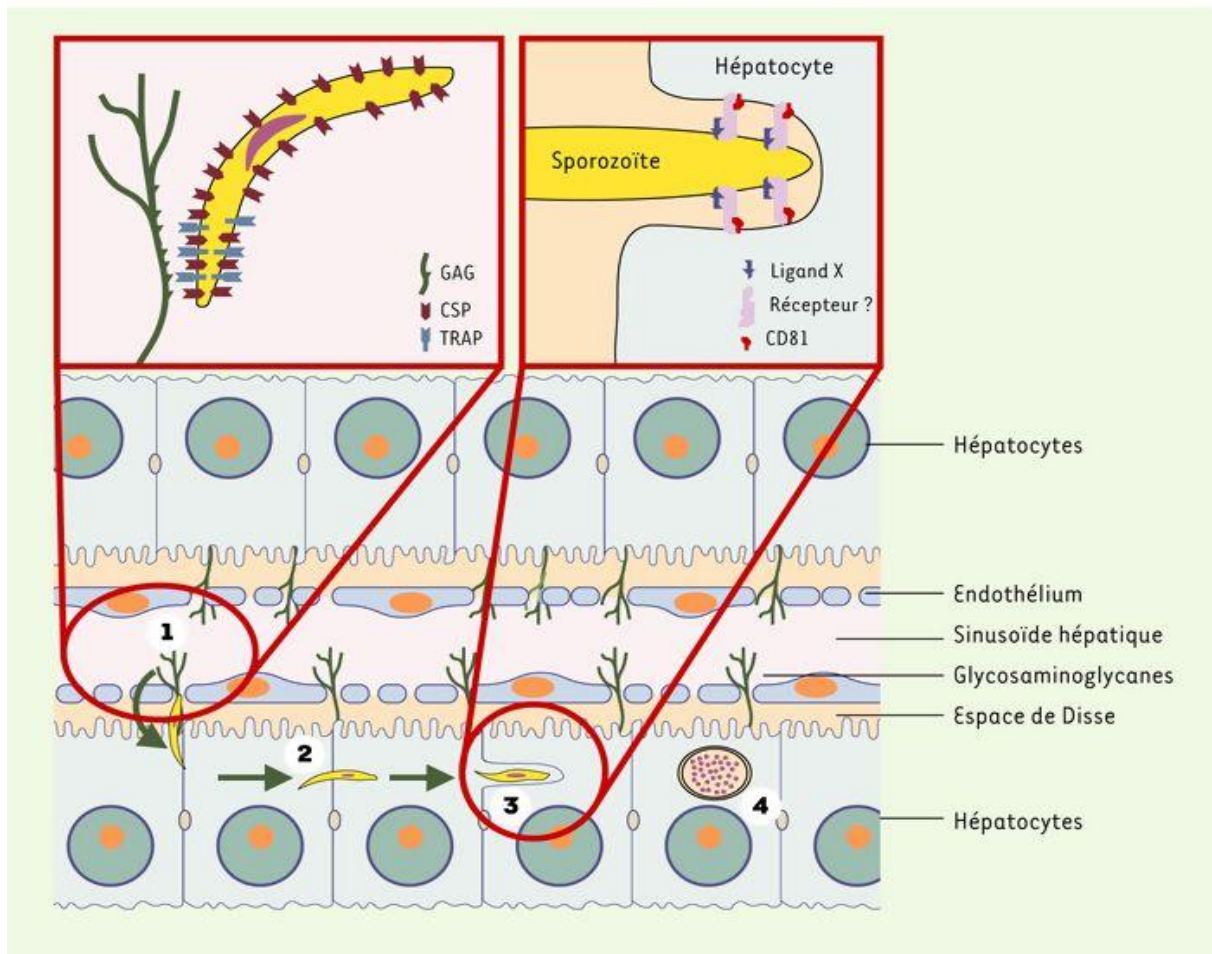


Figure 9 : processus d'infection des hépatocytes par les sporozoïtes de *Plasmodium* (Source : www.erudit.org)

Antigènes de Surface de *Plasmodium*

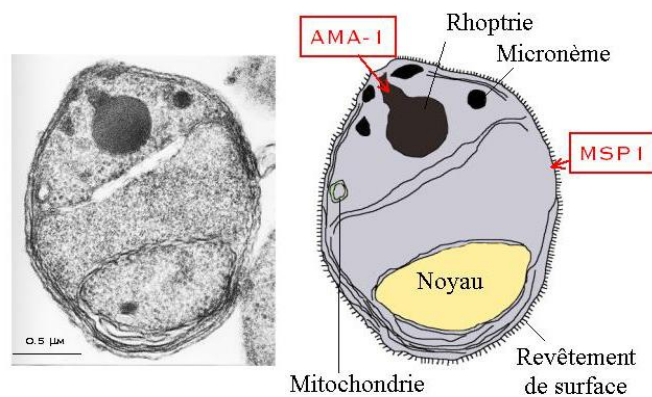


Figure 10 : Photo et représentation schématique d'un mérozoïte de *Plasmodium falciparum*. La localisation de quelques antigènes de surface est indiquée en rouge (Source : www.pasteur.fr).

L'étude de certains antigènes de surface du mérozoïte de *Plasmodium* permet de contribuer à l'optimisation de candidats vaccinaux, mais également d'approfondir les connaissances de la biologie fondamentale de cet organisme.

MSP1 (Merozoite Surface Protein 1) et AMA1 (Apical Merozoite Antigen 1) figurent parmi les antigènes de surface de *Plasmodium* les plus étudiés dans le cadre du développement d'un vaccin contre la malaria.

(a) Merozoite Surface Protein 1 (MSP1)

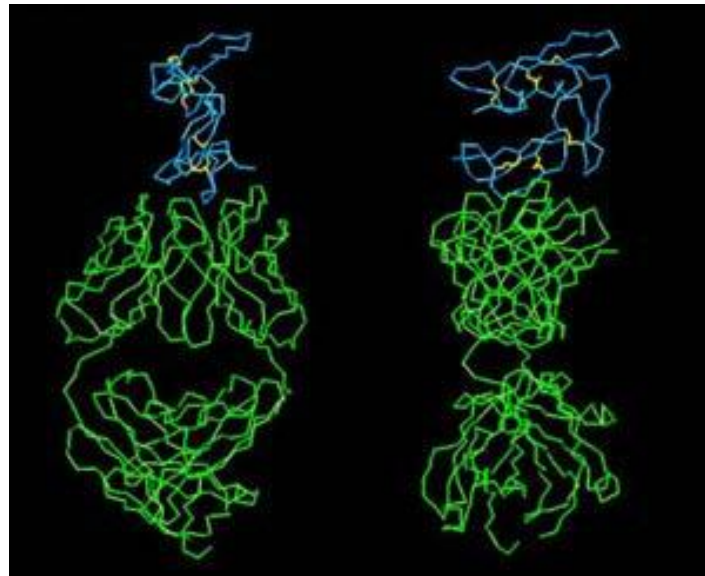


Figure 11 : deux vues orthogonales de MSP1-19 de *P. falciparum* (en bleu) sous forme de complexe avec un fragment Fab d'un anticorps monoclonal spécifique (en vert) (Source : www.pasteur.fr).

MSP1, qui est impliqué dans l'invasion érythrocytaire par le parasite, subit plusieurs coupures protéolytiques au cours du processus de maturation du mérozoïte. Dans une première phase, sont ainsi produits quatre fragments peptidiques, parmi lesquels la partie C-terminale d'environ 42 kDa (MSP1-42) qui reste accrochée à la membrane du mérozoïte. Pendant la seconde phase, qui survient au moment même de l'invasion, MSP1-42 est lui-même scindé en deux fragments d'environ 33 kDa et 11 kDa (historiquement appelé MSP1-19). Cette dernière coupure est essentielle pour le succès de l'invasion, bien que le mécanisme du processus n'ait pas encore été élucidé.

Afin de mieux comprendre le rôle de MSP1 dans l'infection de l'érythrocyte par le mérozoïte de *Plasmodium*, et le(s) mécanisme(s) de protection immunitaire induit(s) par la molécule, nous étudions la structure de deux fragments recombinants solubles de l'antigène, MSP1-19 et MSP1-42, ainsi que de leurs complexes avec des anticorps monoclonaux, par radiocristallographie.

La comparaison structurale entre MSP1-42 et MSP1-19 pourrait aider à analyser l'importance de la maturation protéolytique de MSP-1, nécessaire pour l'entrée du

mérozoïte dans le globule rouge. Ces études pourraient également aider à mettre en évidence les régions impliquées dans l'interaction du parasite avec la cellule hôte. La structure de ces dérivés polypeptidiques pourrait révéler la distribution spatiale des résidus polymorphiques et la position des épitopes protecteurs, informations-clés pour la conception optimale de candidats vaccinaux. A l'heure actuelle, ont été déterminé la structure de MSP1-19 de *P. cynomolgi* et de MSP1-19 de *P. falciparum*, l'espèce la plus pathogène pour l'homme, sous forme de complexe avec un fragment Fab d'un anticorps spécifique.

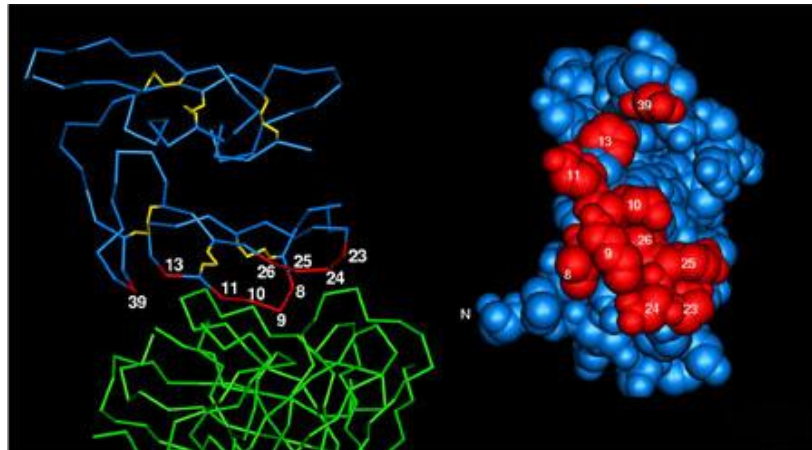


Figure 12 : l'épitope de MSP1-19 de *P. falciparum* reconnu par un anticorps monoclonal spécifique. MSP1-19 est indiqué en bleu, l'épitope en rouge, et l'anticorps en vert (Source : www.pasteur.fr)

(b) Apical Merozoite Antigen 1 (AMA1)

(en collaboration avec les Drs. Alan Thomas et Clemens Kocken, B.P.R.C., Rijswijk)

AMA1 est une protéine membranaire produite par les organelles apicaux du mérozoïte. Pendant l'invasion érythrocytaire, la protéine se répartit sur toute la surface du parasite et, de même que MSP1, subit une série de coupures protéolytiques. Bien que la fonction de AMA1 ne soit pas encore bien caractérisée au niveau moléculaire, son importance dans le processus d'invasion a été démontrée par des études d'immunisation dans des modèles animaux. Nous avons cristallisé la région ectoplasmique de la protéine, et nous avons déterminé sa structure tridimensionnelle.

Antigènes érythrocytaires de *Plasmodium falciparum* *P. falciparum* Erythrocyte Membrane Protein 1

Après l'invasion érythrocytaire, *Plasmodium falciparum* exprime le facteur de virulence PfEMP1 (*P. falciparum* Erythrocyte Membrane Protein 1), qui est ensuite présenté à la surface de l'érythrocyte. PfEMP1 est une adhésine qui confère à la cellule infectée la capacité de s'auto-agglutiner, d'adhérer à d'autres cellules saines ou d'être séquestrée par les cellules endothéliales vasculaires de différents tissus. Les phénomènes d'agglutination et de séquestration induits par les érythrocytes infectés sont en lien direct avec de nombreux effets pathogènes de la malaria (21).

2.4. UN VACCIN POUR QUI ?

Le besoin le plus urgent est de développer un vaccin prévenant la mortalité palustre et la survenue des accès graves. L'accès grave à *Plasmodium Falciparum* et le décès surviennent chez des personnes non ou peu immunes. Dans les zones de forte transmission, le risque est concentré sur une période de quelques années correspondant à la petite enfance. En revanche, dans les zones de faible transmission, la probabilité de contracter une infection – et donc de faire un accès palustre grave – est faible, mais perdure pendant toute la durée de la vie. Selon les zones d'endémie, ce sont donc des contraintes de longévité fort différentes qui s'imposent à l'efficacité vaccinale.

Pour les zones de forte endémie, le plus facile à mettre en place serait une vaccination dans le cadre du programme élargi de vaccination de la petite enfance. Il faudra alors que la durée d'efficacité du vaccin couvre la période du risque maximal, c'est-à-dire au moins les cinq premières années de la vie. Le même vaccin serait-il utilisable pour les zones de transmission faible, où l'incidence est faible et le risque distribué sur toutes les classes d'âge ? Serait-il utilisable dans les situations de type épidémique ou pour le groupe à risque particulier que sont les voyageurs, pour lesquels les contraintes de longévité vaccinale sont moindres ?

Il existe un autre groupe à risque particulier, celui des femmes enceintes. La nature du risque diffère ici aussi selon le niveau de transmission. Chez les femmes vivant en zone de transmission intense, ce sont les primigestes qui sont les plus touchées. La grossesse, et surtout la première grossesse, est associée à une incidence accrue d'accès palustre, mais rarement d'accès grave en raison de l'immunité déjà acquise. Dans les zones de faible endémie, où les femmes ont peu d'immunité acquise, la grossesse augmente le risque d'accès grave. En fait, l'aspect le plus préoccupant du paludisme chez la femme enceinte est l'infection placentaire, observée avec une forte prévalence dans les diverses zones, surtout chez les primigestes. Cela a pour conséquence une augmentation significative du nombre de « petits poids de naissance » (<2500g), ce qui en Afrique accroît d'un facteur 40 la mortalité périnatale et d'un facteur 10 la mortalité au cours de la première année de la vie. Les enfants nés de mère qui avait un placenta infecté (à l'accouchement) ont un risque accru d'accès palustre et d'anémie palustre au cours des six premiers mois de la vie.

Evidemment la colonisation parasitaire du placenta par la vaccination devrait donc avoir des conséquences importantes en santé publique. Les bases moléculaires de la colonisation placentaire ont été récemment déchiffrées, ouvrant des perspectives intéressantes de mise au point d'un vaccin « pour les femmes enceintes ». Quand administrer cet hypothétique vaccin reste une question délicate à résoudre, en particulier pour des sociétés où les jeunes filles ont peu d'autonomie. (17).

Les recommandations pour l'évaluation de vaccins contre *Plasmodium Falciparum* dans des populations exposées à des infections naturelles, rédigées par l'organisation mondiale de la santé, le PNUD et le programme spécial de l'OMS pour la recherche et la formation sur les Maladies Tropicales, suggèrent un contexte général quant aux utilisations potentielles des vaccins pour la lutte antipaludique :

Pour concevoir des essais de terrain vraiment informatifs, il est nécessaire d'envisager la façon dont différents vaccins pourraient être utilisés pour la lutte antipaludique, car les essais de terrain d'un vaccin donné doivent aider à définir sa place dans la lutte. Une telle spéculation est cependant problématique tant qu'on ne dispose que d'informations très réduites sur le type et la durée de la protection susceptibles d'être obtenues chez les personnes vaccinées avec les types de vaccin susceptibles de devenir disponibles. Les combinaisons suivantes de type d'utilisation, de situation et de vaccin sont plus ou moins plausibles.

a. L'inclusion d'un vaccin antipaludique dans le Programme Elargi de vaccination (PEV), dans les situations où il est attendu qu'une transmission importante se maintienne dans un avenir prévisible (comme dans le cas de la plupart des régions d'Afrique tropicale). Un vaccin pré-érythrocytaire induisant une protection à vie serait idéal, mais paraît improbable. Un vaccin de stade sanguin et/ou un vaccin antitoxique sera probablement le plus approprié. Il pourrait être combiné avec un vaccin pré-érythrocytaire pour augmenter la protection individuelle, et/ou avec un vaccin bloquant la transmission afin de protéger les vaccins anti stade sanguin contre la sélection de types antigéniques réfractaires. Il est attendu que l'infection naturelle se maintiendrait, et une stimulation naturelle serait souhaitable. Si la transmission est forte, l'inclusion d'un vaccin pré-érythrocytaire et ou d'un vaccin bloquant la transmission dans le PEV ne devrait pas empêcher une stimulation naturelle suffisante.

Les effets bénéfiques du vaccin en terme de santé publique pourrait être connu dans un délai de 5 à 10 ans seulement, après qu'un nombre suffisant de nourrissons ait été suivi pendant la période dangereuse de la vie (dont la longueur est inversement fonction de l'intensité de la transmission), et même plus longtemps, afin de permettre la détection de tout rebond. L'inclusion d'un vaccin antipaludique dans le PEV soulève les questions suivantes :

- l'interférence possible entre le vaccin antipaludique et les autres vaccins du PEV ;
- le calendrier idéal de la vaccination antipaludique ;
- la possibilité d'adapter en conséquence le calendrier du PEV (voir HOW, 1993) ;
- l'effet possible sur l'acceptabilité du PEV d'un vaccin partiellement efficace ou perçu comme tel (parce qu'il ne protégerait pas contre *P. Vivax* ou les fièvres non palustres.)

b. La vaccination d'immigrants non immuns avant leur arrivée dans une zone d'endémie où il est attendu qu'une transmission importante se maintienne. Les remarques précédentes concernant les types de vaccins s'appliquent également ici. Les bénéfices pour la santé pourraient être connus dans un délai de 2 ou 3 ans.

c. Une vaccination périodique de masse, illimitée dans le temps, de l'ensemble de la population résidente d'une zone d'endémie où il est attendu qu'une transmission importante se maintienne. Le type de vaccin souhaitable serait le même qu'en a. et b. Le maintien de l'effort de vaccination sera un problème majeur.

d. Une ou plusieurs vaccinations de masse dans le cadre d'une campagne limitée dans le temps dont l'objectif serait l'éradication (ou l'élimination presque totale) du

paludisme. La durabilité des résultats obtenus serait un problème majeur. Un vaccin d'efficacité maximum est souhaitable. Une combinaison de vaccins pré érythrocytaire, anti stade sanguin, anti toxique et bloquant la transmission pourrait être appropriée.

e. Une vaccination de masse dans le cadre d'une opération ponctuelle de lutte contre une épidémie de paludisme. Le type de vaccin désirable serait le même qu'en c., mais dans un schéma de vaccination de très courte durée (par exemple une seule injection) serait nécessaire.

f. Une protection des visiteurs non immuns lors de séjours en zone d'endémie (par exemple voyageurs et travailleurs saisonniers). La demande devrait augmenter en raison des problèmes rencontrés avec la chimioprophylaxie. Le meilleur vaccin serait un vaccin pré érythrocytaire très efficace, mais un bon vaccin anti-stade sanguin ou anti toxique pourrait être encore valable dans cette intention. Contrairement aux autres utilisations considérées, une protection de durée relativement courte peut être acceptable ; pour certaines catégories de visiteurs (par exemple les hommes d'affaires) un coût relativement élevé peut aussi être acceptable.

g. Une vaccination sélective des femmes enceintes. Les femmes enceintes et leurs nouveau-nés constituent un groupe à haut risque. Leur protection par la chimioprophylaxie est handicapée par des problèmes de couverture, de chimiorésistance et de toxicité potentielle des médicaments. Leur protection par la vaccination soulève plusieurs problèmes (qu'on peut espérer résoudre), concernant le paludisme placentaire, les types de vaccin, le calendrier de vaccination et la préservation de l'immunité naturelle particulière qui est acquise durant la première grossesse.

Parmi les 7 types d'utilisations considérés, a. b. et f. sont probablement plus plausibles – à l'heure actuelle - que les autres, tandis que a. b. et g. sont probablement les plus importants en termes de santé publique. (22)

La situation est donc à la fois ouverte et complexe du fait de l'hétérogénéité des situations épidémiologiques et des groupes à risques. L'hétérogénéité du niveau d'exposition du système immunitaire au moment de la vaccination est un élément supplémentaire de complexité.

Les contraintes de coût dans le cahier des charges sont telles qu'il est difficile d'envisager de développer et déployer in fine des vaccins à la carte selon les situations épidémiologiques. Les recherches actuelles en sont encore à une phase exploratoire, visant à déterminer la meilleure stratégie, les meilleures immunogènes et à en éprouver le pouvoir vaccinant dans des phases d'essais pilotes examinant la protection contre la réinfection ou contre la survenue des accès simples. Une fois l'efficacité démontrée, le chemin sera encore long avant leur utilisation effective dans les différentes conditions épidémiologiques. (16).

2.5. LES ADJUVANTS

On ajoute des adjuvants à de nombreux vaccins pour renforcer leur immunogénicité et leur efficacité. Les sels d'aluminium (aluns) sont largement utilisés comme adjuvants et sont généralement considérés comme sans danger.

Les effets en tant qu'adjuvants des sels d'aluminium sont néanmoins limités et une grande variété d'adjuvants nouveaux et très divers est en cours d'évaluation en vue de leur introduction dans des vaccins nouveaux ou améliorés. Il s'agit notamment d'immunostimulateurs, de supports microparticulaires et d'émulsions, ainsi que de diverses associations de ces produits. Ces adjuvants, on l'espère, pourraient permettre le développement de vaccins sans risque et efficaces contre des maladies pour lesquelles on ne dispose pas encore de vaccins, telles que le paludisme, et également d'améliorer l'efficacité d'autres vaccins. Un grand nombre de ces nouveaux adjuvants étant susceptibles d'entrer dans la composition de vaccins destinés à répondre à des situations d'endémie touchant des pays en développement, des systèmes de surveillance de la sécurité de ces nouveaux vaccins devront être établis. (17)

Malgré des investigations consciencieuses et complètes de l'immunité humorale et cellulaire des volontaires engagés dans les études cliniques, aucun indicateur de protection clinique n'a pu être observé jusqu'à maintenant. Ce manque de connaissance empêche la sélection d'antigènes et d'adjuvants définis et oblige les chercheurs à tester de manière extensive de nombreux candidats vaccinaux potentiels, à la fois en laboratoire et sur le terrain. Vu qu'il n'existe pas de paramètre immunologique indicateur d'une protection, il est aussi très difficile d'établir des critères pour passer d'une phase d'étude clinique à une autre. Enfin, les études cliniques concernant les vaccins antimalariques sont conduites dans des pays où la perception de la maladie ainsi que de la recherche scientifique peut être très différente de celle des investigateurs qui appartiennent généralement aux pays industrialisés. Ces différences doivent être prises en compte dans le design et la conduite des études.

Mais même si la recherche pour un vaccin antimalarique idéal n'a pas rencontré beaucoup de succès jusqu'à maintenant, elle a permis des progrès majeurs dans le champ de la vaccinologie, spécialement dans le développement des vaccins à ADN et, plus récemment, dans l'évaluation de nouveaux puissants adjuvants et immunomodulateurs.

Comme les peptides synthétiques ou les protéines recombinantes présentent un haut degré de purification, ces produits entraînent moins de réactions que les vaccins utilisant des micro-organismes atténués ou tués. Pour obtenir des réponses immunes raisonnables, ces produits doivent être mélangés avec des adjuvants plus puissants que l'hydroxyde d'alumine. Une série de nouveaux adjuvants et immunomodulateurs est en cours d'investigation ; les produits les plus prometteurs sont des émulsions d'huile et d'eau comme le SEPPIC Montanide ISA 720, le lipide monophosphoryl A et les dérivés des saponines comme le QS21 ; ces composants peuvent être également combinés comme dans le SBAS2 ou SBAS4. Une autre technologie prometteuse dans le domaine de l'adjuvantation a déjà été appliquée avec succès pour un vaccin contre l'hépatite A et la grippe ; il s'agit de virosomes de la grippe reconstitués qui induisent d'excellentes réponses immunes et qui

semblent appropriés pour la construction de vaccins à multiples composants. L'encapsulation de protéines dans des microsphères représente aussi une technologie attractive puisqu'elle permet la libération continue avec effet retard des antigènes. (18)

Des essais sur la sécurité et l'immunogénicité d'un vaccin recombinant AMA1 contre *Plasmodium falciparum* adjuvanté avec AlhydrogelTM, Montanide ISA 720 ou AS02 ont été menés dans le but d'étudier les effets de différents adjuvants dans différentes concentrations.

Ces essais démontrent que la réactogénicité de ce vaccin varie selon l'adjuvant. L'immunogénicité, tant à hautes et basses doses, et dans toutes les formulations adjuvantes est bonne, bien que le type et l'ampleur de la réaction immunitaire varient selon les différents groupes d'adjuvants.

Trois immunisations avec 50 µg du vaccin « adjuvantée » par Montanide provoque un abcès stérile chez deux des dix volontaires. La progression de l'induration de l'abcès stérile n'a été précédemment annoncée qu'après l'immunisation avec Montanide. Dans tous les rapports, le développement d'un abcès a suivi l'immunisation intramusculaire et a été accompagné par une immunogénicité augmentée. La réactogénicité accrue de vaccins avec le Montanide a été attribuée à une combinaison de doses d'antigènes et la formation d'un dépôt de vaccin qui peut persister localement et c'est inhérent aux émulsions type eau-dans-l'huile. De même l'induration au site d'immunisation précédent a été attribué à l'antigène persistant dans des essais précédents.

Ces essais ont donc démontré que la combinaison du vaccin PfAMA1 exprimée avec Montanide ou AS02 est significativement plus immunogène que des formulations PfAMA1 précédentes sans adjuvant, et est capable d'inciter de hauts niveaux d'anticorps pour deux dosages différents dans deux groupes d'adjuvants. Une tendance positive entre la dose d'antigène, la réponse en anticorps et l'inhibition de croissance du parasite in vitro pourrait être détectée, bien que l'effet de dose d'antigène sur l'immunogénicité soit négligeable comparé à l'effet induit par la variation de l'adjuvant. La large variété de réactions immunitaires trouvées dans ces formulations avec des adjuvants différents souligne l'importance de ceux-ci comme composant critique dans le développement d'un vaccin contre le paludisme. (23)

2.6. CONTRAINTES ET LIMITES DES MODÈLES.

Il n'est pas envisageable de développer des vaccins sans recourir à l'expérimentation animale, aussi bien pour disséquer les effecteurs de la protection, que pour identifier les facteurs parasitaires de virulence et analyser l'immunogénicité des diverses molécules dans divers modes de présentation et d'administration. Il faut pouvoir mesurer la protection induite, en procédant à des tests fonctionnels in vitro s'ils existent, mais aussi en réalisant des infections expérimentales d'épreuve. Pour ce faire, il faut disposer de modèles expérimentaux d'infection. La spécificité d'hôte des espèces de *Plasmodium*, très restreinte pour l'hôte vertébré, et les caractéristiques propres à chaque espèce imposent des contraintes expérimentales importantes (17).

Les modèles animaux typiquement utilisés sont les rongeurs et les singes. Mais les modèles de rongeurs utilisant *P. yoelii*, *P. berghei* ou *P. chabaudi*, qui mènent à des infections mortelles, diffèrent basiquement de l'infection chronique avec *P. falciparum* chez l'homme. Et lorsque des souris sont exposées au *plasmodium falciparum*, elles ne développent pas de paludisme « humain ». De plus dans l'éventualité où la maladie enclencherait une réaction immunitaire contre le parasite, celle-ci ne pourrait pas être comparable à celle observée chez l'homme en raison de son système immunitaire différent (24).

Les primates non-humains comme les singes Aotus ou Saimiri, rhésus macaque, des singes Cercopithecus ou des chimpanzés sont des modèles principaux pour *P. falciparum* dans les études de protection du vaccin, mais leur coût, la pénurie et des contraintes morales fortes limitent leur utilisation. Aussi, la tolérance de parasitémie élevée et l'acquisition rapide d'immunité après l'infection chez les animaux limitent l'interprétation d'études d'efficacité (20).

Des scientifiques britanniques, néerlandais et australiens ont créé, par ingénierie génétique, un modèle animal de souris permettant pour la première fois de tester l'efficacité potentielle d'un vaccin contre le paludisme. Il s'agit d'un progrès d'importance majeure car les techniques de développement de vaccins avaient été jusqu'ici ralenties en raison du manque de modèles animaux.

L'étude menée a exploité une caractéristique particulière de résistance naturelle à *Plasmodium falciparum* chez des individus gambiens : le tissu sanguin de ces personnes contient un anticorps spécifique dirigé contre une protéine de surface du *P. falciparum*, nommée la merozoite surface protein (MSP119).

Les résultats de l'étude décrivent les techniques complexes d'ingénierie génétique utilisées, qui peuvent être résumées en trois étapes :

- épissage du peptide MSP119 situé à la surface du parasite *P. falciparum*, et insertion de celui-ci dans le parasite spécifique de la souris, *Plasmodium berghei* ; nous parlerons par la suite de parasite « humanisé » ;
- création d'une lignée de souris génétiquement modifiées, porteuses du récepteur à l'anticorps humain « FcγR1 ». Ces souris développent une maladie dont les symptômes ressemblent à ceux du paludisme humain après inoculation du parasite *Plasmodium berghei*. En d'autres termes, le parasite « humanisé » n'est donc pas reconnu par le système immunitaire de la souris et induit le développement de la maladie.
- identification et isolation d'IgG ou d'anticorps capables de reconnaître le parasite « humanisé ». Pour ce faire, les scientifiques ont criblé une base de données préparée à partir du sang d'individus gambiens naturellement résistants au parasite *P. falciparum* et ont identifié l'anticorps capable de se lier au MSP119. Isolé et purifié, cet anticorps s'est montré efficace contre le *Plasmodium berghei* génétiquement modifié, venant s'y lier et induire une réponse immunitaire chez la souris conduisant à la mort du parasite.

Les récepteurs FcγR1 interagissent avec les immunoglobulines les plus communes (IgG), capables de se lier à de nombreuses classes de pathogènes. La réaction

immunitaire est alors déclenchée lorsque les IgG se lient au pathogène d'un côté et à son récepteur sur la cellule immunitaire de l'autre. Le récepteur FcγR1 est alors exprimé à la surface des globules blancs dans le sang des souris : il permet de reconnaître l'agent étranger dans le sang (dans ce cas précis, le parasite humain) et vient s'y lier, donnant ainsi le signal nécessaire aux globules blancs de détruire le parasite.

Les scientifiques sont pleins d'espoir pour l'avenir du contrôle de la maladie car l'immunité peut être transférée de façon passive, c'est-à-dire de la mère à l'enfant. A la suite de ces résultats très prometteurs, ils espèrent pouvoir démarrer des essais cliniques dans un avenir proche (24).

L'Unité de parasitologie Biomédicale de l'Institut Pasteur a récemment mis au point des souris dont le foie contient des hépatocytes humains, qui reproduisent la phase hépatique du paludisme. Ces modèles animaux permettent d'évaluer rapidement *in vivo* l'intérêt protecteur de vaccins candidats (25).

Pour ce qui est des singes, le cycle complet de *P. falciparum* est obtenu au prix d'une grande lourdeur logistique chez le chimpanzé, ou des singes du nouveau-monde comme Saimiri ou Aotus. Le cycle sanguin est obtenu en routine chez le singe Saimiri ou Aotus, avec des souches de *P. falciparum* adaptées à ces singes. Les caractéristiques de l'infection sont différentes chez ces deux espèces. Chez Aotus on observe une infection fulminante, aboutissant à la mort de l'animal pour cause d'hyperparasitémie. Chez Saimiri, on observe une infection avec résolution spontanée à la suite d'un accès clinique. Le modèle d'infection expérimentale du singe Saimiri est particulièrement approprié pour étudier la pathologie palustre, puisque les symptômes cliniques sont similaires à ce qui est observé lors de l'accès simple chez l'homme. Dans certaines conditions expérimentales, on observe une anémie grave, une des formes majeures du paludisme grave de l'enfant. Chez un singe, on peut bien entendu suivre l'infection d'épreuve sur une beaucoup plus longue période, ce qui permet d'étudier l'éventuelle sélection de parasites d'échappement, et surtout de mesurer les conséquences de la vaccination sur la survenue de l'accès palustre (17).

L'Unité de Parasitologie Expérimentale de l'Institut Pasteur dispose d'un modèle primate (Saimiri sciureus), développé ces dernières années par Jürg Gysin, et qui a connu depuis une constante évolution impliquant des chercheurs d'horizons très différents. Ce primate est aujourd'hui considéré comme un modèle expérimental des complications neurologiques, de l'œdème pulmonaire, de l'anémie, du paludisme gestationnel et d'autres aspects physiopathologiques induits par une infection à *P. falciparum*. Divers aspects concernant ces pathologies graves induites par la cytoadhérence ont été abordés à la fois *in vivo* chez l'animal et *in vitro* chez l'homme dans le laboratoire de Jürg Gysin à Marseille. Ce modèle permet tout autant d'analyser les processus moléculaires en jeu et leur inhibition, que d'évaluer des candidats vaccins potentiels ou des anticorps monoclonaux anti-parasitaires ou anti-maladie dans un environnement complexe et proche des conditions existant chez l'homme (25).

Nous savons que la rate joue un rôle majeur au cours de l'infection palustre, aussi bien dans l'élimination du parasite que dans la modulation du phénotype parasitaire. Plusieurs systèmes expérimentaux ont en effet montré que la splénectomie de l'hôte

entraînait une augmentation de la parasitémie ainsi qu'une altération du phénotype parasitaire (antigènes de surface et propriétés de cytoadhérence). Chez l'homme, la rate n'a pu être étudiée que sur des prélèvements d'autopsie, donc à un stade tardif de l'infection. Un programme de recherche a débuté à l'Institut Pasteur dont le but est d'explorer les fonctions spléniques en début d'infection, à un stade où elles pourraient conditionner l'orientation clinique. Le premier objectif a été de mettre en place un système d'organe isolé-perfusé permettant une survie de plusieurs heures de la rate ex vivo. Une étude de faisabilité sur dix rates de porc a abouti à des résultats très encourageants. Un réseau de collaboration a maintenant été établi avec plusieurs hôpitaux parisiens, donnant accès à des rates humaines prélevées chez des patients dans le cadre d'interventions sur des néoplasies gastriques ou pancréatiques. Ces rates seront perfusées avec des érythrocytes infectés par *P.falciparum*, ceci permettant d'effectuer diverses explorations fonctionnelles et immunohistochimiques (22).

Il ne faut surtout pas négliger les deux groupes cibles majeurs de la vaccination : la période néonatale et la grossesse. Nous n'avons pas encore de modèle expérimental établi de paludisme gestationnel avec séquestration placentaire des parasites, et très peu de travaux se sont penchés sur l'immunisation de nouveau-nés. Cela est probablement dû aux difficultés à mettre en place des modèles expérimentaux dans ces groupes particuliers. Une alternative serait d'avoir recours à un modèle expérimental chez le primate, mais on se heurte à des barrières délicates à franchir. Il est très difficile d'expérimenter sur des femelles gestantes. De même, la manipulation de singes nouveau-nés pose de sérieux problèmes, puisqu'elle peut entraîner le rejet du petit par la mère et le groupe d'appartenance. Il n'en demeure pas moins que le développement de stratégies rationnelles d'interventions vaccinales chez les nouveau-nés exposés ou non dès leur naissance, et donc en présence ou non d'anticorps maternels, nécessite une modélisation expérimentale qui fait cruellement défaut à l'heure actuelle. Il est dommage que les essais vaccinaux chez les nouveau-nés en zone d'endémie ne soient pas précédés et accompagnés d'une modélisation expérimentale chez l'animal nouveau-né (17).

2.7. LES ESSAIS SUR LE TERRAIN.

Construire et élargir la capacité des essais cliniques en Afrique et dans les autres régions endémiques de la malaria pour s'adapter au nombre croissant d'essais exigés pour le développement du vaccin est nécessaire.

En l'absence d'une compréhension minutieuse des réactions immunitaires vis-à-vis de *P. falciparum* et des mécanismes de la maladie, l'évaluation clinique des candidats vaccin est la seule façon de mesurer l'efficacité et la durée de protection. L'évaluation de ces candidats dans les secteurs endémiques de la malaria fournit les informations les plus fiables pour comprendre comment le vaccin va probablement fonctionner dans les conditions d'exposition naturelle.

Plus loin, les candidats doivent être évalués dans des secteurs avec des configurations de transmission et d'épidémiologie diverses. Actuellement, il y a peu de sites d'essai clinique en Afrique qui peuvent conduire des essais de vaccin. Pour s'adapter au

nombre croissant de candidats passant par le pipeline, la communauté malaria doit renforcer et assurer la durabilité de sites existants en s'assurant que ceux-ci maintiennent leur pertinence pour la recherche scientifique.

Tandis qu'un certain nombre de sites d'essai clinique existent déjà dans les secteurs endémiques de la malaria en Afrique, peu ont des modèles économiques durables avec un personnel qui peut conduire des essais dans de bonnes conditions. Des sites multiples sont exigés pour assurer une capacité suffisante dans l'avenir. Pour préparer des sites cliniques pour l'évaluation des vaccins candidats, un financement fiable est nécessaire ainsi qu'un personnel qualifié. Les sites exigent aussi une direction locale avec des compétences de gestion de projet remarquables et capables de gérer le personnel, les ressources, et de garantir une productivité de recherche cohérente, supportée financièrement.

Chaque site exige aussi des structures comptables financières et un personnel spécialisé (par exemple, des coordinateurs de recherche cliniques certifiés, une assurance qualité de gestion de données et des moniteurs de recherche cliniques). Une capacité d'éthique biomédicale plus forte est aussi nécessaire pour s'assurer que des normes morales soient appliquées. Le développement de cursus viables et la sécurité de l'emploi sont exigés pour attirer et conserver des enquêteurs et un personnel, pour assurer qu'une masse critique de personnel compétent, qualifié soit disponible, pour soutenir ces sites à long terme.

En plus de la force du site lui-même, un certain nombre de facteurs scientifiques affectent la convenance de sites pour des essais de vaccin. Les essais cliniques avec un candidat vaccin prometteur devront finalement être conduits dans des configurations de transmission et des configurations épidémiologiques variées afin de démontrer l'efficacité du candidat dans ces configurations.

Pour finir, les sites doivent être capables de conduire à long terme ces essais, particulièrement dans le but d'identifier des effets secondaires potentiels. Des directives devraient être développées pour encourager le contrôle à long terme et l'évaluation de LA sécurité et de la durée de protection. L'amélioration des systèmes démographiques qui peuvent caractériser la population étudiée et le suivi des sujets pendant cinq ou six ans permettra un contrôle à plus long terme. (26)

Les essais débutent par un développement préclinique : cette étape du développement crée et valide un procédé de fabrication fiable pour un vaccin candidat. Le développement préclinique peut prendre plusieurs années et inclut la détermination de la meilleure plate-forme ou le système de distribution pour le vaccin; la sélection de l'adjuvant améliorant l'immunisation; la purification du vaccin en le « dépolluant »; la fabrication de la meilleure formulation ou du mélange final du vaccin; et la conduite des essais toxicologique assurant que le produit ne cause aucun dégât sanguin ou tissulaire chez les animaux. Une fois que le développement préclinique est complet, un candidat vaccin peut se placer dans des essais cliniques chez l'homme.

Les essais cliniques sont des études à long terme qui évaluent la sécurité, l'efficacité et l'immunogénicité d'un vaccin candidat. Ils sont typiquement conçus en quatre phases, et chaque phase successive se concentre sur de nouvelles recherches et nécessite un nombre croissant de volontaires impliqués.

Le processus d'essai clinique pour des produits biologiques n'est pas direct et linéaire, mais itératif : selon les résultats, un produit peut repasser le même essai ou revenir au précédent jusqu'à ce qu'il soit prêt, pour obtenir le feu vert pour la phase suivante. La phase 1a/1b des essais évalue la sécurité et la réaction immunitaire; la phase 2a/2b des essais évalue la sécurité, la réaction immunitaire et l'efficacité préliminaire. Ces essais ont lieu dans des pays non endémiques (pour la phase 1a, la phase 2a) ou des pays endémiques (la phase 1b, la phase 2b). Les essais de la phase 3 et 4 évaluent plus loin la sécurité et l'efficacité, avec des essais de phase 4 ayant lieu après la licence du vaccin. (27)

Le développement d'un vaccin est un processus rigoureux. Typiquement, le développement d'un vaccin commence par la recherche basique et appliquée pour identifier des candidats potentiels, modelés pour prévoir comment le candidat interagira avec le système immunitaire, la fabrication de produit pour les essais cliniques et l'approbation réglementaire pour utiliser le vaccin dans des essais cliniques humains. Les chercheurs créent des protocoles d'essai détaillés suivant des directives scientifiques strictes avec une grande attention à la protection du sujet humain. Le protocole explique ce que l'essai cherche à accomplir ; comment cela sera fait; combien de volontaires sont nécessaires; qui a le droit de participer; quels produits seront évalués et à quel dosage; quels genres d'essais médicaux et de soin vont être appliqués aux volontaires; et quelles informations seront recueillies sur les participants. Il fournit aussi clairement les définitions des critères mesurables de l'étude.

Les phases d'essai clinique pour les vaccins anti malariques varient quelque peu de ceux d'autres vaccins en raison de l'intensité de l'infection constatée dans la malaria et la capacité d'évaluer sans risque l'efficacité préliminaire chez des volontaires non exposés normalement à la maladie.

Les essais de phase 1 sont courts, impliquant habituellement 100 volontaires et la dernière année de recrutement sert à parapher l'analyse de données. Ces premiers essais évaluent la sécurité du produit chez l'humain et identifient les effets indésirables communs, s'il y en a. Les essais de vaccin de la phase 1 évaluent aussi la capacité du vaccin à produire une réaction immunitaire et peuvent être utilisés pour déterminer un dosage approprié pour de nouveaux essais.

Pour la malaria, les essais de sécurité conduits dans des pays non-endémiques (d'habitude le pays d'origine du vaccin) sont généralement appelé des essais de phase 1a. Une fois que la sécurité et l'immunogénicité ont été démontrées, les essais sont conduits dans le pays endémique - phase 1b. Les essais de vaccin de la phase 1b sont généralement conduits d'abord chez des adultes, ensuite chez des enfants si le vaccin semble sans danger sûr chez ces premiers.

Si le produit a été démontré assez sûr pour passer aux essais de phase 2, plusieurs centaines à quelques milliers de volontaires seront recrutés pour une durée d'essai de deux ans ou plus. L'exception actuelle est l'essai avec les sporozoïtes irradiés, désigné comme la phase 2a.

Dans les essais de phase 2a, un petit nombre de volontaires naïfs de la malaria dans des pays non-endémiques sont vaccinés et exposés plus tard à des moustiques infectés pour voir combien de temps cela prendra pour qu'ils soient eux-mêmes infectés. Au premier signe d'infection, les volontaires sont traités avec un médicament anti-paludéen fortement efficace contre la souche de malaria à laquelle ils ont été exposés. Les essais de phase 2a donnent une indication préliminaire de l'efficacité du vaccin avant qu'il ne passe dans la phase 2b (en pays endémique) des essais. Des questions de recherche clefs à la phase 2 peuvent inclure :

- Confirmation de sa sécurité,
- Immunogénicité,
- La composition de vaccin optimale, nombre de doses et programme,
- Pour les vaccins anti-malariques, efficacité préliminaire si l'essai est spécifiquement conçu pour le démontrer et
- Chez les enfants en bas âge, l'interférence avec d'autres vaccins de l'enfance.

Parfois les gens deviennent excessivement optimistes quant aux résultats obtenus lorsque la phase 2 est fructueuse, espérant que le produit pourra bientôt être commercialisé. Avec ces types de vaccins en particulier, une série d'essais de phase 2 sera nécessaire.

Brièvement, ces essais évalueront le vaccin :

- « point par point » dans des tranches d'âge allant des adultes aux enfants en bas âge,
- Dans une variété de pays avec des taux de transmission de la malaria et une saisonnalité différents et
- Dans les pays qui pourraient avoir des souches différentes du parasite de la malaria, pour évaluer sa sécurité et son efficacité vis-à-vis de ces souches.

Après n'importe lequel de ces essais de phase 2, le vaccin pourrait devoir être reformulé et réévalué ensuite dans des essais de phase 1 ou 2.

Si le vaccin est performant dans une série d'essais de phase 2, un essai de phase 3 central est conduit, évaluant la sécurité et l'efficacité du vaccin sur des dizaines de milliers de volontaires. Les essais de phase 3 doivent être assez étendus pour permettre aux gouvernements d'être absolument sûrs que les vaccins fonctionnent dans des conditions diverses, y compris des modèles de transmission de malaria différents, avant qu'il ne soit distribué à la population. Les essais de vaccin de phase 3 dureront de trois à cinq ans, de l'inscription aux essais au suivi.

Comme cela est vrai avec des vaccins contre d'autres maladies, un essai de phase 3 n'aboutira pas nécessairement à un produit pouvant donner suite à une licence.

Si, cependant, les résultats de phase 3 démontrent une efficacité et une sécurité suffisantes, le fabricant demande la permission de donner une licence et commercialise le produit et soumet un plan pour la phase 4 - à long terme, contrôle post-licence de sécurité. Cela doit permettre d'assurer que n'importe quels effets adverses sérieux rares, y compris des effets secondaires retardés possibles, puissent être détectés tôt, bien que cela soit peu évident tant que le vaccin n'a pas été utilisé par des millions de gens. La phase 4 étudie aussi l'efficacité du vaccin - particulièrement par rapport aux effets secondaires-, les effets positifs (comme la réduction de l'anémie, dans le cas d'un vaccin anti malarique) et la durée de protection. Les essais de phase 4 peuvent durer de quatre à six ans. (20)

Etapes dans le développement d'un vaccin anti-paludéen.

Aussi critiques qu'ils soient, les essais cliniques ne représentent qu'une partie du processus de développement du vaccin. Voici comment ils se passent.

Recherche fondamentale : des antigènes potentiellement utiles sont identifiés.

Recherche appliquée : concepts de vaccin créés.

Développement préclinique : essais sur l'animal.

Développement de processus : créer et valider le procédé de fabrication pour le produit d'essai clinique.

La phase 1a/b d'essai clinique : sécurité et réaction immunitaire.

La phase 2a/b d'essai clinique : sécurité, réaction immunitaire, efficacité préliminaire.

La phase 3 d'essai clinique : sécurité et efficacité.

Licence : approbation réglementaire pour la grande distribution.

Introduction : vies sauvées.

La phase 4 d'essai clinique : sécurité complémentaire et efficacité.

Phase 1	Phase 1a	Phase 1b	Phase 2a	Phase 2b	Phase 3	Phase 4
Emplacement	Pays non-endémique	Pays endémique	Pays non-endémique	Pays endémique	Pays endémique	Pays endémique
Nombre moyen de participants	Moins de 30 volontaires par étude	Moins de 100 volontaires par étude	Moins de 30 volontaires par étude	Plusieurs centaines à quelques milliers de volontaires par étude	Dizaine de milliers de volontaires au total	Centaines de milliers à millions de consommateurs du produit sur le marché (études post-licence)
But	Pour	Pour	Pour	Pour	Pour	Pour continuer

	trouver un dosage sûr Observer comment le produit affecte le corps humain Mesurer l'immunogénicité	trouver un dosage sûr Observer comment le produit affecte le corps humain Etendre les mesures d'immunogénicité parmi une population exposée à la malaria	continuer à contrôler la sécurité et les effets secondaires potentiels Mesurer l'immunogénicité Mesurer l'efficacité préliminaire contre l'infection	continuer à contrôler la sécurité et les effets secondaires potentiels Pour mesurer l'immunogénicité Mesurer l'efficacité préliminaire contre l'infection et/ou contre la maladie Peut aider à déterminer le dosage optimal	continuer à contrôler la sécurité, les effets secondaires potentiels et l'efficacité	à contrôler la sécurité, les effets secondaires (pour ceux se produisant très rarement) et l'efficacité parmi une population très large d'utilisateurs Pour mesurer la durée de protection au long terme Pour évaluer l'acceptation publique du vaccin
Durée	Jusqu'à 12 mois.	Jusqu'à 12 mois	Jusqu'à 12 mois	Jusqu'à plus de 2 ans	3 à 5 ans	4 à 6 ans

2.8. DE LA NÉCESSITÉ DE DÉVELOPPER DE NOUVELLES TECHNIQUES.

Au moins jusqu'à ce qu'un vaccin contre le paludisme fortement efficace ne soit autorisé, la communauté anti malarique devrait continuer à poursuivre un pipeline robuste de candidats soutenus par une base de recherche puissante.

Il y a très peu de candidats vaccin contre la malaria susceptibles d'obtenir une licence en tant que première génération de vaccin avant 2015. Les scientifiques croient qu'une approche raisonnable, à base de preuve est exigée pour obtenir une licence pour un vaccin fortement efficace de seconde génération avant 2025. Tandis qu'une prise de décision basée sur des preuves essentielles, critiques comblant la connaissance existent toujours. Ceux-ci incluent :

- une compréhension incomplète des mécanismes d'infection et de la maladie.
- une compréhension incomplète des mécanismes de l'immunité.

Le progrès dans la compréhension de l'infection, de la maladie et de l'immunité protectrice a été ralenti par l'incapacité à comparer des données produites par des scientifiques en laboratoire et en centre médical. Les priorités décrites ci-dessous sont conçues pour augmenter la connaissance et maximiser l'étude dans la communauté en améliorant la capacité de faire des comparaisons à travers des jeux de données et en utilisant de nouveaux outils.

1. Développer un jeu standard d'essais immunologiques avec des procédures et des réactifs standardisés pour permettre des comparaisons entre les réactions immunitaires des vaccins.

La communauté voudrait être capable de comparer des résultats expérimentaux et d'évaluer des réactions immunitaires induites par un vaccin à travers des études de vaccins semblables. Cela exige des procédures de caractérisation standardisées, comme des essais immunologiques et fonctionnels ainsi que des réactifs et des protocoles utilisés pour chaque étape d'évaluation d'un produit vaccinal. Des efforts de standardisation passés ont tardé à se développer, particulièrement quand ils ont exigé des approches façonnées. Par exemple, des essais différents peuvent être nécessaires pour évaluer des candidats différents, selon l'antigène cible du candidat, le mécanisme d'immunité protectrice et l'étape de développement. Pour de tels essais, des réactifs standardisés et des procédures d'exploitation standard peuvent aider dans la production de résultats solides et reproductibles qui permettraient donc la comparaison des vaccins candidats.

Convenir de méthodologies d'essais immunologiques standards n'est pas insignifiant, mais de nombreux efforts sont en route pour commencer le processus. Ces premiers efforts devraient être communiqués et soutenus par la communauté pour s'assurer qu'ils aboutissent à des essais standards qui seraient susceptibles d'élever les encours et reflètent la compréhension scientifique actuelle. Une fois établies, les méthodes pour encourager l'adhésion à ces standards devraient être développées. Par exemple, les chercheurs pourraient utiliser un laboratoire indépendant et aisément accessible avec des validations d'essai incorporées et des normes de contrôle de qualité pour exécuter certains essais dans des conditions aveugles.

En fin de compte, un abrégé d'essais recommandés devrait être disponible à la communauté mondiale avec des procédures standardisées associées et des réactifs bien caractérisés.

Un laboratoire centralisé ou "établissement de référence virtuelle" consistant en plusieurs laboratoires en réseau pourrait mettre à jour l'abrégé d'essais comme des avancées de compréhensions scientifiques et comme les méthodes sont optimisées. Un tel abrégé exigerait le partage de méthodes détaillées, des réactifs et des antigènes, des sérums immuns, des anticorps monoclonaux et la fourniture ou la formation de personnel nécessaire pour exécuter les essais. Un besoin urgent spécifique est le développement de nouveaux essais immunologiques pour examiner les productions cellulaires qui reflètent l'immunité à médiation cellulaire.

2. Standardiser la conception d'essai clinique et l'évaluation pour la comparaison de données et pour déterminer des corrélats de protection.

Les essais cliniques de vaccins anti-malariques sont conçus soigneusement afin d'assurer que des données suffisantes sont rassemblées quant au candidat de vaccin évalué pour informer la prise de décisions pour son développement futur. Parce que les essais exigent des ressources financières et humaines significatives, les scientifiques contrôlent traditionnellement les coûts en rassemblant seulement les données exigées pour mesurer les critères principaux et secondaires.

Cette approche pose deux problèmes. Premièrement, les définitions et les types de critères diffèrent parmi les essais cliniques, faisant des comparaisons parmi les candidats et à travers des essais difficiles ou impossibles. C'est dû en partie au besoin de définitions de cas différents dans des conditions épidémiologiques différentes avec l'accompagnement de manifestations cliniques et pathologiques différentes. Ensuite, une fois que les candidats ont muté dans le développement clinique, la recherche est généralement concentrée sur la mesure de l'efficacité protectrice, avec un accent minimal sur les questions de recherche fondamentale qui restent, comme l'élucidation des mécanismes d'immunité et l'établissement de corrélats de protection. Ces deux limitations doivent être renseignées pour maximiser le bénéfice de ces essais. Malgré la complexité de présentation de la malaria, une standardisation plus importante est possible et devrait être poursuivie pour augmenter la capacité de comparer des résultats à travers les études.

Bien que n'étant pas une nouvelle idée, la standardisation serait un changement dans la pratique des essais cliniques actuelle. La standardisation de procédures des essais et des points finaux, avec le consentement informé approprié, permettra aux chercheurs une utilisation plus large des échantillons d'essai et des jeux de données pour établir les modèles de corrélation de protection. En utilisant un jeu standard des mesures de tous les résultats des essais obtenus et le partage étendu des résultats, les scientifiques seraient capables de comparer des essais dans des conditions épidémiologiques différentes avec des adjuvants et des antigènes différents. Les données de contrôle, tant positives que négatives, et les normes peuvent offrir des aperçus et devraient être incluses dans des jeux de données. L'harmonisation des essais cliniques entraînera aussi des implications morales et réglementaires.

Même avec des critères standards, la comparaison de vaccins sera toujours un challenge, compte-tenu des différences entre les vaccins candidats, des conditions de transmission et des épidémiologies des populations où les vaccins sont évalués. Les points finaux standardisés doivent être combinés avec des informations détaillées sur les participants aux essais, y compris l'âge, le taux d'endémie de la malaria, l'utilisation des méthodes individuelles de protection contre la malaria et le contexte génétique. Les études doivent refléter la diversité épidémiologique des sites d'essai et devraient chercher à déterminer la réaction immunitaire par tranche d'âge et par exposition au parasite. Un soin particulier est nécessaire pour protéger les droits des sujets humains et leur confidentialité. Avec la standardisation d'essai clinique et des essais standardisés, les scientifiques pourraient significativement augmenter la poursuite de corrélations fiables de protection.

3. Utiliser des approches dernier cri, y compris la génomique fonctionnelle, pour caractériser les fonctions biologiques des protéines à l'interface des interactions hôte-parasite et pour identifier de nouveaux antigènes candidats potentiels.

Tandis que les chercheurs choisissent parfois des antigènes à évaluer d'après des conditions cliniques basées sur leurs interactions cellulaires, ils manquent d'une compréhension complète des interactions hôtes-parasite pour guider ces choix d'une façon optimale. Des outils génomiques peuvent augmenter la compréhension des scientifiques de l'interaction détaillée entre le parasite et son hôte. Par exemple, les chercheurs peuvent déterminer quels gènes sont essentiels pour la survie du parasite et lesquels sont superflus. Cet aperçu peut permettre aux chercheurs d'identifier des molécules spécifiques, ou des parties de molécules du parasite qui peuvent représenter de nouvelles cibles immunes. La réalisation d'une compréhension claire des fonctions des protéines pour informer et conduire la sélection d'antigènes représente une nouvelle approche qui peut guider l'application systématique d'outils génomiques. Les scientifiques peuvent appliquer cette compréhension à l'identification de nouveaux concepts de vaccin.

Le travail a déjà commencé dans ce secteur. Les chercheurs du vaccin commencent juste à utiliser de nouvelles technologies génomiques et protéomiques. Alors qu'ils sont qu'actuellement coûteux, ils offrent des aperçus de coûts des nouvelles cibles vaccinales potentielles et exigent typiquement des échantillons de sang minimales. Les efforts dans l'utilisation des technologies génomiques et protéomiques devraient accélérer la course dans le but poursuivi de 2025. Ces outils peuvent permettre aux scientifiques d'identifier des sentiers d'invasion alternatifs, spécifier les molécules impliquées dans les interactions et définir la fonction des gamétocytes, des ookinètes et des protéines de surface du sporozoïte.

Les technologies spécifiques qui devraient être développées et appliquées à la recherche pour ce vaccin incluent la mutagénèse visée, le profil d'expression et expérimental, la recherche génomique fonctionnelle chez les humains et sur les parasites du *P. falciparum* de populations diverses.

En appliquant ces nouveaux outils à l'étape érythrocytaire du parasite, la phase du cycle de vie du parasite qui présente la complexité scientifique la plus grande, devrait s'avérer être particulièrement productive. Tandis que quelques efforts sont fournis pour considérer l'étape érythrocytaire utilisant la génomique, ils restent quelque peu fragmentés. Une application plus systématique de la génomique à l'étape érythrocytique est nécessaire, puisqu'un composant de cette étape va probablement être une partie clef d'un vaccin fortement efficace.

Des approches génomiques peuvent aussi aider à comprendre les effets de la diversité génomique naturelle (c'est-à-dire, le polymorphisme) parmi les parasites et les gens. Les raisons pour lesquelles le polymorphisme parasite et humain se sont co-développés sont inconnues, mais peuvent avoir des implications importantes pour comprendre quels molécules de parasite sont critiques pour la maladie et la corrélation épidémiologique des diversités. L'union d'équipements de recherche dans des pays endémiques et non-endémiques pour faciliter l'échange de l'information peut ajouter une

structure aux interactions de recherche de laboratoire et cliniques concentrées évaluant le polymorphisme et ses implications pour le développement de vaccin.

4. Développer des outils de partage d'information via le Web pour renforcer des connexions entre le laboratoire et les cliniques.

Ceci pourrait faciliter le partage de données entre les chercheurs de laboratoire et les cliniques. Par exemple, cela pourrait faciliter plusieurs études essentielles dans les mécanismes d'immunité innée et acquise, y compris à travers les études d'essai. Avec des systèmes de partage d'information efficaces, les scientifiques pourraient dans le monde entier échanger des données immunologiques efficacement, éclairant la réaction immunitaire et comment elle varie en fonction de l'épidémiologie et de l'âge et sur des mécanismes de protection induite par le vaccin.

Le partage d'information doit inclure des processus et des procédures pour protéger la possibilité pour les chercheurs de publier des découvertes dans les journaux, rivaliser pour des subventions et poursuivre d'autres récompenses universitaires traditionnelles. Des normes pour accéder aux informations dans des bases de données partagées sont aussi exigées pour assurer des données utiles et appropriées à l'analyse suivante.

Le Projet de Génome Humain offre des leçons pour des méthodes de partage d'information et les mécanismes de financement qui permettent la collaboration et le partage de données en soutenant la concurrence traditionnelle, saine, universitaire. Le Projet de Génome Humain a adopté un processus qui a permis le partage d'information dans une structure règlementée qui ont protégé la capacité du chercheur à publier plus tard les découvertes. Il y a aussi des précédents pour une telle collaboration dans la communauté de malaria, comme le projet de génome de *P. Falciparum* en fait la preuve.

Un tel partage de données de pré publication pourrait accélérer le progrès dans le développement du vaccin de deux ou trois ans, le temps typiquement exigé pour publier des résultats. N'importe quel nouveau processus de partage d'information devrait être crédible, fournir des motivations pour la participation et être une voie pour partager les résultats de recherche tant négatifs que positifs qui sont importants pour promouvoir le développement du vaccin. (26)

2.9. DES OBSTACLES AUXQUELS NOUS N'AURIONS PAS PENSÉ.

Les vaccins contre la malaria pourraient déclencher « une course aux armements » biologique mortelle entre la nature et l'humanité. De nouvelles formes de la maladie, encore plus mortelles que les versions présentes, seraient nées avec des conséquences dévastatrices.

L'avertissement a été publié par les chercheurs de l'Université d'Edimbourg qui pensent que les premiers vaccins contre la maladie infectieuse la plus mortelle du monde pourraient rebondir inopinément sur l'humanité.

« Nous ne disons pas que la recherche contre la malaria devrait être interrompue mais nous avertissons vraiment les chercheurs qu'ils devraient se rendre compte que les vaccins pourraient avoir des effets secondaires inattendus et très inquiétant, à moyen terme, » a déclaré le Professeur Andrew Read, de l'Institut d'Edimbourg de Cellule, l'Animal et la Biologie de Population.

« Tout serait bien à première vue, avec une baisse du taux d'infection. Mais, dans quelques décennies, de nouvelles souches hyper-pathogènes pourraient frapper des populations non protégées. »

Un vaccin contre la malaria est un des Saints Graal des médicaments modernes. Les efforts pour créer des vaccins efficaces contre la malaria ont été embrouillés parce que le parasite est une entité beaucoup plus complexe qu'une bactérie ou un virus. Il existe beaucoup de souches différentes et le parasite se développe constamment.

Néanmoins, les chercheurs ont commencé à faire des progrès et l'année dernière les essais cliniques de plusieurs vaccins différents ont été lancés. « Tantôt les résultats ont été encourageants - mais ils indiquent aussi qu'un vaccin anti-palludéen ne va pas probablement jamais fournir une protection totale, ». « Le parasite est trop complexe pour cela.

Par exemple, un vaccin qui a passé des essais cliniques a démontré réduire les taux d'infections de la malaria d'un tiers dans un groupe de volontaires, comparés avec un groupe semblable qui n'a pas reçu le vaccin. C'est ce type de protection imparfaite qui pourrait donner naissance à des souches plus mortelles de la malaria, » disent les scientifiques d'Edimbourg.

Ils indiquent que les souches virulentes du parasite de la malaria meurent normalement les uns après les autres presque aussitôt qu'ils sont créés - parce qu'ils éliminent leurs hôtes humains. Mais une fois que les individus commencent à obtenir une protection de par les vaccins, ces super-souches commenceraient à fleurir. Les individus inoculés agiraient comme des épïcêtres pour la multiplication de super-parasites; les moustiques les ingèreraient et les répandraient aux autres personnes.

« Ce serait parfait si on donnait à chacun dans le monde ce vaccin, mais cela ne va très probablement pas arriver, ». « Inévitablement, beaucoup de gens resteront non vaccinés et seront alors infectés par de nouvelles super-souches - avec des conséquences mortelles. Autrement dit, nous aurons deux types de population - les protégés et ceux particulièrement vulnérables et assujettis, succombant à la malaria. Un lot profitera aux dépens d'un autre. » (28)

Les scientifiques rencontrent de nombreux problèmes dans le domaine de la vaccinologie anti paludique et ceux-ci ralentissent la création d'un vaccin prometteur. Mais quand pouvons-nous espérer voir apparaître une telle prévention et quels sont les buts que s'est fixé la communauté anti malarique ? Qu'en est-il des connaissances de la réaction immunitaire développée par l'organisme humain permettant de comprendre comment mieux créer ce vaccin ? Et surtout où en sommes-nous à l'heure actuelle dans sa création ?

C'est dans une 3^{ème} partie que nous tenterons de répondre à ces questions.

3. UNE IMMUNITÉ COMPLEXE, **DES STRATÉGIES VACCINALES INNOVATRICES.**

3.1. LA ROADMAP.

"Posséder un vaccin antimalarique fortement protecteur et en permettre une utilisation répandue dans des secteurs affectés serait un vrai accomplissement pour la santé publique. Il accomplirait un besoin urgent," a dit le docteur Marie-Paule Kieny, Directeur de l'Initiative pour la Recherche de Vaccin à l'Organisation Mondiale de la Santé. "La Roadmap signe la première tentative mondiale concertée pour construire un plan d'action afin de créer un vaccin préventif bien réel."

La Roadmap est une échelle à gravir dont le sommet serait de développer un vaccin contre le paludisme avant 2025 qui aurait une efficacité protectrice de plus de 80 % contre la maladie clinique et fournirait une protection durant plus de 4 ans ; avec un barreau intermédiaire qui correspondrait à une licence pour un vaccin de première génération avant 2015, avec une efficacité protectrice de 50 % contre la maladie sévère et la mort qui serait effective plus d'un an. (29)

Cette « carte routière » a pour but d'accélérer et d'améliorer le développement de vaccins antimalariques prometteurs en :

- apportant une structure cohésive pour définir des besoins critiques et en mettant au point des investissements technologiques
- fournissant un plan pour aligner et guider les activités de la communauté antimalarique mondiale
- aidant à catalyser un nouvel investissement et en concentrant les fonds venant de donateurs sur les besoins prioritaires.

Ce plan reflète la vision partagée de la communauté de vaccin contre la malaria. Il encourage la collaboration (des scientifiques, des donateurs, des experts en politique et des décideurs nationaux et mondiaux), tout en attirant l'investissement nécessaire. Ce n'est pas un plan prédéterminé sujet au business habituel.

La portée de ce plan se limite aux vaccins ciblant *P. Falciparum* pour une population cible correspondant aux enfants âgés de moins de cinq ans vivant en Afrique Subsaharienne ou dans d'autres régions fortement endémiques. Il n'inclue pas la distribution du vaccin. (29)

Plus de 230 experts représentant 100 organisations de 35 pays ont collaboré pour développer et publier cette roadmap au cours des cinq dernières années. Les principaux représentants de la communauté antimalarique, des experts et des gens qui

collectent des fonds ont tenu une série de réunions afin de déterminer des moyens pour surmonter les défis faisant face au développement d'un vaccin contre le paludisme.

Les défis incluent : des scientifiques « ignorants » face au manque de compréhension des mécanismes de l'infection de la malaria, de la maladie et de l'immunité ; des ressources inadéquates ; l'engagement limité de secteur privé et des mécanismes incertains pour procurer et distribuer un vaccin couronné de succès.

La roadmap présente 11 priorités dans quatre secteurs principaux de travail qui doivent être entreprises – d'une façon plus coordonnée que précédemment - par des parties diverses vers le développement d'un vaccin.

Ce sont :

- La recherche : la standardisation de procédures pour comparer des réactions immunitaires produites par des vaccins candidats, l'utilisation de techniques dernier cri et le développement de l'information via le web pour renforcer les relations entre les laboratoires et les cliniques.

- Le développement du vaccin : incluant la poursuite des approches de vaccin de parasite entier affaibli, multi-antigènes, ou multi-stades.

- Les capacités clé : établir une formulation aisément accessible et capable d'être développée, à grande échelle avec une bonne capacité d'expérimentation clinique et de pratique clinique en Afrique et d'autres secteurs endémiques de la malaria.

- La politique et la commercialisation : entretenir le dialogue avec des pays et des données clé pour faciliter les décisions politiques, une garantie de financement durable, et le développement de nouvelles stratégies régulatrices pour accélérer la licence d'un vaccin sûr.

(30)

3.2. UN PARASITE, TROIS STADES, DE MULTIPLES POSSIBILITÉS.

Pour beaucoup de maladies infectieuses il est possible de produire une version atténuée (inoffensive) du pathogène ou une sous-unité pathogène qui mènera à l'immunité protectrice sans causer la maladie. Bien que ce soit techniquement possible (sporozoïtes irradiés injectés par la piqûre de moustiques infectés peuvent mener à l'immunité protectrice), il est peu pratique de le faire sur une grande échelle. (31)

Le but avec la plupart des vaccins est d'inciter les anticorps et des réponses de cellules T envers un ou plusieurs antigènes, mais pour une vaccination efficace contre le paludisme ceux-ci devront être d'une durée, d'une supériorité et d'une ampleur plus grande que dans l'immunité naturellement acquise. Une alternative, une approche ambitieuse à long terme, serait d'utiliser un cocktail de nombreux antigènes pour essayer d'imiter l'immunité naturelle, mais cela pourrait mener à un produit complexe et coûteux. (32)

Un vaccin anti paludéen idéal empêcherait toute l'infection par l'amorçage du système immunitaire pour détruire tous les parasites, dès l'entrée de celui-ci dans la circulation sanguine, puis dans le foie, et même, théoriquement, dans des globules rouges.

Cependant, le cycle de vie du parasite pose un certain nombre de défis à la réaction immunitaire. Les différentes phases du cycle expriment des profils antigéniques variables et ont des emplacements différents, exigeant ainsi différentes cibles antigéniques et différents mécanismes effecteurs. Ainsi, les vaccins sont développés pour bloquer l'entrée du sporozoïte dans le foie ou tuer les cellules du foie infectées (vaccin pré-érythrocytaire), pour bloquer le cycle du parasite dans les globules rouges (vaccin érythrocytaire) ou pour bloquer la transmission de l'hôte humain au vecteur : le moustique.

L'approche traditionnelle pour développer des vaccins anti malariques s'est alors concentrée sur le ciblage d'un des stades de développement du parasite, tel que le stade pré-érythrocytaire (ou hépatique), asexué (intra-érythrocytaire) ou le stade sexuel. Les stratégies de vaccin pré-érythrocytaire aspirent à produire une réponse en anticorps capable de neutraliser les sporozoïtes en les empêchant d'envahir le foie, aussi bien que mettre à jour une réponse immune à médiation cellulaire capable d'interférer avec le cycle de multiplication intra-hépatique du parasite, comme par exemple en tuant les hépatocytes infectés par le parasite. Ce type de vaccin serait idéal pour des voyageurs parce qu'il empêcherait l'apparition de n'importe quelle forme de maladie clinique.

Les stratégies de vaccin du stade asexué aspirent à mettre à jour les anticorps qui inactiveront les mérozoïtes et/ou cibleront les antigènes paludéens exprimés en surface via une cytotoxicité cellulaire anticorps-dépendante et/ou par le complément de lyse; et signifient aussi mettre en évidence des réponses de cellules T capables d'inhiber le développement du parasite. En diminuant la multiplication exponentielle des mérozoïtes, ce type de vaccin servirait surtout à diminuer l'impact de la maladie dans les pays endémiques. Quant aux vaccins qui ciblent le stade sexuel du parasite, ils n'aspirent pas à empêcher la maladie ou l'infection chez l'individu vacciné, mais à empêcher ou diminuer la transmission du parasite à de nouveaux hôtes. On peut voir ce vaccin 'bloqueur de transmission' comme un vrai vaccin altruiste. (15)

3.2.1. L'IMPORTANCE DE COMPRENDRE L'IMMUNITÉ.

On ne connaît pas la nature exacte de la réaction immunitaire protectrice. Cependant, il est possible d'extrapoler ce qui pourrait être une réaction immunitaire utile de ce qu'on connaît de l'emplacement du parasite dans l'organisme et la réaction immunitaire de l'hôte aux infections naturelles et expérimentales.

Le sporozoïte est en natation libre, donc l'anticorps peut le cibler.

L'anticorps, pour être efficace, doit être de titre très élevé et très spécifique - il a seulement quelques minutes pour agir avant que le parasite ne "se cache" dans les cellules du foie. Chaque sporozoïte doit être neutralisé puisque qu'un seul peut donner naissance à 40 000 mérozoïtes et continuerait à se multiplier au stade érythrocytaire. En

outre, le niveau d'anticorps doit être très élevé pour entraîner une protection durable puisque l'augmentation immunologique via l'infection naturelle est limitée. (20)

Au cours de l'infection plasmodique, le système immunitaire est tenu de réagir contre tous les antigènes relargués par le parasite. La majorité des antigènes n'induisent pas d'immunité protectrice : les anticorps concernés sont des témoins d'un contact récent avec le parasite, ni plus ni moins.

Les antigènes qui induisent la protection sont situés à la surface du parasite. Ils sont spécifiques de stade, d'où l'absence de protection croisée entre immunité anti-sporozoïte, anti-mérozoïte et anti-gamétocyte.

De plus, il est étonnant de constater qu'une protection efficace contre les formes asexuées du sang n'est acquise, en zone endémique, qu'après plus de 6 ou 8 ans de contact avec les parasites. C'est en effet vers cet âge que les densités parasitaires baissent de manière significative chez les enfants pourtant continuellement infectés. Une explication plausible serait que les parasites qui se succèdent chez l'enfant, suite aux multiples inoculations par le moustique, présentent une diversité génétique énorme qui se traduit au niveau des schizontes sanguins par des contenus antigéniques différents (polymorphisme antigénique). Le sporozoïte est en effet un stade hybride résultant de la fécondation de deux gamètes pouvant avoir des origines différentes.

Les anticorps participent à la protection aussi bien que les cellules T et les monocytes sécréteurs de monokines.

La formation de complexes antigènes-anticorps au niveau de la CSP facilite la phagocytose des sporozoïtes et leur destruction dans les macrophages.

Pour le stade hépatique, ce sont les lymphocytes T cytotoxiques qui sont responsables de la cytotoxicité sur l'hépatocyte infecté exprimant l'antigène parasite en surface par l'intermédiaire du complexe majeur d'histocompatibilité de classe I. L'immunité anti-sporozoïte comme l'immunité anti-mérozoïte pourrait agir indirectement sur le parasite et sa cellule hôte, respectivement au début et à la fin du développement du schizonte, au moment où les antigènes spécifiques de ces stades sont exprimés par l'hépatocyte infecté : sécrétion de cytokines, particulièrement l'interféron γ (IFN γ) et l'interleukine 6 (IL6).

Au niveau de la surface des mérozoïtes, c'est une opsonisation qui a lieu. Elle neutralise les sites de reconnaissance cellulaire et interfère donc avec le mécanisme d'invasion des érythrocytes. Les parasites intracellulaires pourraient être atteints par les lymphokines et les globules rouges infectés peuvent également subir l'opsonisation par les anticorps reconnaissant les antigènes parasites exposés en surface.

La reconnaissance des antigènes de surface des gamétocytes et leur opsonisation les rend inaptes à la fécondation. (1)

Les vaccins contre la malaria en développement incluent : des vaccins pré-érythrocytaire ou de stade hépatique qui aspirent à protéger contre le premier stade d'infection de la malaria; les vaccins de stade érythrocytaire qui aspirent à réduire la sévérité de la maladie; et les vaccins bloquant la transmission qui sont destinés à empêcher les

moustiques qui se sont nourris d'une personne infectée de transmettre la malaria à de nouveaux hôtes. (33)

Ces trois types de vaccins sont analysés successivement ci-dessous.

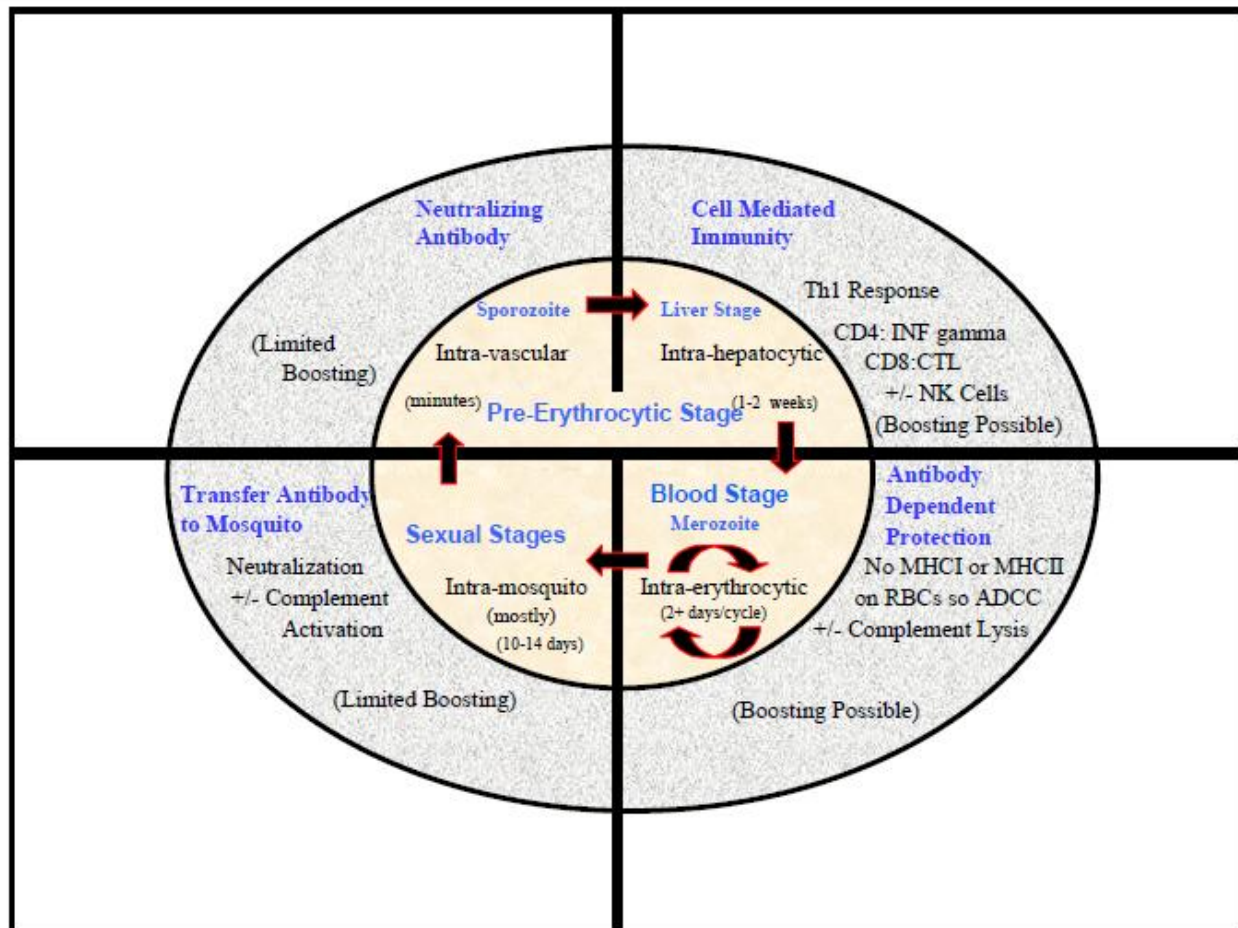


Figure 13 : les différents vaccins possibles en fonction du stade (Source : Malaria Vaccine Initiative at path).

3.2.2. LES VACCINS PRÉ-ÉRYTHROCYTAIRES OU HÉPATIQUES.

Pendant le stade hépatique, le parasite mûrit dans les hépatocytes. Une immunité à médiation cellulaire (la réponse Th1) est donc pensée comme critique. Cela implique des lymphocytes stimulants (tant les lymphocytes T CD4 + que T CD8 +) qui peuvent alors cibler et détruire les cellules du foie infectées, détruisant ainsi les parasites se développant. L'immunité spécifique envers les stades hépatiques ne peut être réalisée que par une action coordonnée des cellules T CD8 et des anticorps spécifiques, qui collaborent avec les cellules natural killer (NK) et les macrophages (MA). L'interféron-gamma (IFN- γ) y joue un rôle important. (34)

Puisque les antigènes du stade hépatique peuvent être exposés relativement longtemps, augmentant avec l'exposition à l'infection naturelle, ils peuvent renforcer la réponse immune du vaccin. (20)

Les vaccins dirigés contre le stade pré-érythrocytaire ont pour objectif de prévenir l'infection des hépatocytes et/ou de détruire les hépatocytes infectés. Les mécanismes immunitaires effecteurs comprennent des anticorps contre la surface du sporozoïte et l'IFN- γ produit par des cellules T CD4+ et CD8+. Les bénéficiaires principaux sont les enfants dans les zones endémiques, les voyageurs et les résidents non immuns de zones à faible transmission. Un vaccin de ce type appelé RTS,S/AS02 est en cours de développement.

Il est constitué de particules chimériques contenant l'antigène HBs (antigène S de l'hépatite B) et une portion de la protéine circumsporozoïtaire (CS) fusionnée à cet antigène. Il confère une protection de courte durée contre une épreuve avec des sporozoïtes (30 à 80 % de protection) et chez des adultes vivant en zone d'endémie (Gambie).

D'autres antigènes comme la CSP, LSA1, LSA3, PfEXP1, STARP, SALSA et TRAP/SSP2 sont aussi inclus dans des vaccins contre les stades pré-érythrocytaires en cours de développement. (16)

3.2.3. LES VACCINS ÉRYTHROCYTAIRES.

Pendant le stade érythrocytaire, le parasite est caché dans les globules rouges. Puisque les globules rouges n'expriment pas les molécules du Complexe Majeur d'Histocompatibilité I ou II, la réaction immunitaire est à la charge des anticorps des processus associés. Par exemple, la médiation cellulaire dépendante en anticorps cytotoxiques et le complément lytique pourraient jouer un rôle dans l'élimination des globules rouges infectés. L'augmentation avec l'infection naturelle est possible. (20)

Les vaccins dirigés contre le stade sanguin asexué ont pour objectif de réduire le niveau de parasitémie et la maladie. Ils agissent en permettant le blocage de l'infection des hématies avec des anticorps et/ou la destruction des hématies infectées par cytokines. Leurs bénéficiaires seraient les enfants des zones endémiques. Un exemple de ce type de vaccin est celui basé sur la protéine de surface MSP-1 développé à l'Institut Pasteur de Paris. Il s'agit d'une protéine MSP-119 produite en baculovirus. D'autres vaccins contre les stades asexués érythrocytaires comprennent les antigènes AMA1, GLURP, HRP- 1, MSP1, MSP2, MSP3, RAP- 2, RESA, SERA ou PfEMP1. (16)

Des mécanismes multiples qui pourraient induire une immunité protectrice ont été identifiés, comme les anticorps qui agissent réciproquement avec les récepteurs superficiels des érythrocytes et interdisent leur invasion par les mérozoïtes, les anticorps qui aident à détruire les parasites intra-érythrocytaires par les monocytes, anticorps directement dirigés contre les antigènes de surface des mérozoïtes qui obtiennent une agglutination des mérozoïtes libres et facilitent leur phagocytose, ou les anticorps qui

empêchent l'attache d'érythrocytes infectés à l'endothélium vasculaire, pour ne pas mentionner des cytokines comme l'IFN- α , LE TNF- α ou IL-12, qui peuvent obtenir par médiation la mise à mort du parasite. Le défi majeur rencontré par les vaccins qui ont pour but de répondre à ce type de questions est le haut polymorphisme et la variabilité des antigènes du mérozoïte. (15)

Des chercheurs s'intéressent de plus près au stade érythrocytaire asexué du parasite de la malaria, qui cause la maladie clinique. L'immunité des stades érythrocytaires est pensée pour être obtenu par médiation par des anticorps qui bloquent l'invasion, opsonisent les érythrocytes infectés ou les réponses à médiation cellulaire qui éliminent les parasites via une sur-régulation de médiateurs inflammatoires. Ils sont particulièrement intéressés par le rôle que les lymphocytes T CD4 naturels ou induits par le vaccin jouent dans l'immunité à médiation cellulaire. Ils ont utilisé des modèles de rongeurs pour comprendre les réactions immunitaires à l'infection et la pathologie induite par le stade érythrocytaire du parasite. Leurs premières études de souris immunisées avec deux des vaccins candidats principaux, MSP1-19 et AMA-1, ont démontré que les cellules T CD4 + sont certainement critiques pour l'induction d'une immunité agissant comme un effecteur (anticorps indépendant) et/ou comme des cellules helper (anticorps dépendant).

Les cellules T mémoire du stade érythrocytaire.

Comme les cellules T spécifiques de l'antigène sont exigées pour l'activation des lymphocytes B, la génération de plasmocytes et la réactivation de lymphocyte B mémoire, la longévité de l'immunité cellulaire B protectrice contre la malaria peut aussi être affectée par la nature des réponses des cellules T. Les données de ce laboratoire suggèrent que les lymphocytes T CD4 subissent une apoptose vaste après l'infection du stade érythrocytaire suggérant que l'on puisse détériorer la génération suivante de cellules mémoire chez les individus infectés. Malgré leur pertinence pour n'importe quelle approche de vaccin, jusqu'à présent, il y a seulement peu de données sur la persistance de réponses cellulaires T dans des cas de malarias infectant les rongeurs ou dans le cas de malarias humaines. Les intérêts actuels incluent la caractérisation des mécanismes pour la génération de lymphocytes T mémoires spécifiques de la malaria et leur rôle dans l'immunité à la réinfection.

L'effacement des cellules B mémoire spécifique du parasite pendant l'infection.

Leurs études se sont aussi étendues pour caractériser la réponse spécifique en cellule B mémoire après l'infection et l'immunisation. Bien que l'on ait montré de hauts titres d'anticorps dans l'un des vaccins candidats principaux, MSP1-19 (le fragment C-terminal de la protéine superficielle mérozoïte 1) pour obtenir par médiation la protection complète dans des systèmes modèles, il n'était pas évident que ce candidat-vaccin pourrait produire une protection à long terme. Semblable à leurs observations sur des cellules T CD4 spécifiques du parasite, ils ont constaté que des cellules de mémoire fonctionnelles

produites par la protéine superficielle mérozoïte 1, en soit, n'offrent pas de protection. C'est parce que le parasite incite l'effacement de la mémoire spécifique du vaccin aussi bien que des plasmocytes d'une grande longévité incluant ceux spécifiques pour des réactions immunitaires de témoin. Cette étude démontre un nouveau mécanisme par lequel le plasmodium retire la mémoire immunologique de vaccins, qui laisseraient l'hôte immuno-compromis. Nous caractérisons maintenant le mécanisme d'un tel effacement.

Changement de la fonction des cellules dendritiques pendant la malaria.

La sévérité de malaria peut s'étendre de la maladie asymptomatique aux infections mortelles. Cependant, les facteurs moléculaires et cellulaires responsables de ces différences de sévérité de maladie sont mal compris. Puisque des cellules dendritiques (DC) amorcent des réactions immunitaires, le laboratoire a comparé leur phénotype et fonction après l'infection avec l'espèce non-mortelle ou mortelle de parasites chez le rongeur pour identifier leur contribution à la sévérité de la maladie. Ces études suggèrent que les changements de la fonction des DC après la malaria contribuent à la sévérité de la maladie. Nous examinons activement le mécanisme par lequel les DC obtiennent le contrôle de la maladie. (35)

3.2.4. LES VACCINS CIBLANT LE STADE SEXUEL DU PARASITE.

La réaction immunitaire aux stades sexuels dépend du transfert de l'anticorps de l'hôte chez le moustique pendant le repas sanguin. L'anticorps humain neutralise alors les stades sexuels avant qu'il n'ait l'opportunité de mûrir et de se développer en sporozoïte. (20)

Des vaccins contre le stade sexué visent à prévenir la transmission par des anticorps pouvant bloquer le développement du parasite chez le vecteur. Les récipiendaires de ces vaccins seraient des populations vivant dans des zones de faible transmission. Ce type de vaccin serait utile en combinaison avec des vaccins ciblant d'autres stades de développement du parasite. Les antigènes susceptibles de susciter la production d'anticorps bloquant la transmission comprennent Pfs230, Pfs48/ 45, Pfs27/ 25, Pfs28, Pfs25 et Pfs16. (16)

La réaction immunitaire envers les antigènes superficiels des stades sexués est limitée, pour des raisons similaires à celles qui jouent dans les stades asexués. Les structures internes des gamétocytes, par contre, ont maintenu une immunogénicité importante, mais ne sont normalement pas exposées au système immunitaire humain. Basées sur ces données fondamentales, de nouvelles directions dans le traitement du paludisme compliqué et les perspectives d'une vaccination sont en discussion. (35)

Remarque :

Comme mentionné plus tôt, l'absence de compréhension quant à la nature de l'immunité protectrice ajoute à la complexité du développement du vaccin comme la formulation en antigènes du parasite purement empiriques. De plus un antigène potentiellement protecteur peut échouer dans des essais cliniques parce que la formulation utilisée peut inciter une réaction immunitaire qui sera par exemple inopportune ou inadéquate. Le manque de systèmes adjuvants puissants qui possèderaient une sécurité clinique démontrée ajoute à la complexité du domaine. (15)

3.3. LES STRATÉGIES VACCINALES.

Le développement du vaccin concerne principalement le choix de candidats vaccins spécifiques, une formulation convenable et la conduite des essais cliniques. Comme c'est le cas avec beaucoup d'autres maladies, la compréhension incomplète de l'immunologie de la malaria et des mécanismes de cette maladie oblige les scientifiques à suivre des méthodes en grande partie empirique pour identifier des vaccins candidats.

Les efforts du développement de ce vaccin connaissent cinq obstacles significatifs :

- Les scientifiques manquent actuellement d'une compréhension adéquate des mécanismes de la maladie et de l'immunité, ou de corrélat, nécessaire pour choisir des candidats pour passer aux essais cliniques.
- L'évaluation d'un seul vaccin exige beaucoup d'années et des millions de dollars.
- Il y a beaucoup plus de vaccins candidats de la malaria potentiels qu'il n'y a de possibilité de financement pour étudier ces candidats par des essais cliniques.
- Des vaccins candidats multi-antigènes peuvent offrir une efficacité plus haute, mais ne peut pas être évalués rapidement dans la clinique et peuvent être coûteux à fabriquer.
- L'approche par le parasite entier peut offrir une efficacité très élevée, mais n'est pas capable d'être distribuée à l'échelle nécessaire pour satisfaire la demande mondiale en tant que vaccin anti malarique.

Etant donné ces défis, les scientifiques ont besoin d'une méthodologie pour choisir les vaccins candidats les plus prometteurs en réduisant au minimum les investissements inutiles dans des approches moins prometteuses ou superflues. En conséquence, établir un raisonnement systématique et rigoureux pour choisir les vaccins candidats de sous-unité pour avancer aux essais cliniques est un souci principal dans le développement de vaccin. En même temps, parce que les scientifiques ne savent pas si les

approches de sous-unité seront capables d'offrir des vaccins fortement efficaces, des approches alternatives comme le parasite entier et les vaccins de combinaison devraient aussi être poursuivis.

3.3.1. ÉTABLIR UNE APPROCHE SYSTÉMATIQUE POUR DONNER LA PRIORITÉ AUX VACCINS CANDIDATS DE SOUS-UNITÉS UTILISANT DES CRITÈRES PRÉCLINIQUES ACCEPTÉS.

Les chercheurs ont longuement débattu la façon de classer les vaccins candidats - un processus qui exige des critères pour organiser les innombrables occasions disponibles dans l'ère post-génomique. Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, il y a plus de 30 candidats de vaccins anti malariques potentiels en développement. La majorité d'entre eux est basée sur des protéines recombinantes et plus de la moitié ne concerne qu'un seul antigène, avec des ressources disponibles mais limitées pour évaluer ces candidats, la priorisation est exigée.

Une approche systématique, à base de preuves pour donner la priorité aux vaccins candidats accélérerait la progression de concepts de vaccins prometteurs et promouvrait une confiance plus grande parmi les scientifiques et les donateurs si les investissements sont concentrés sur les meilleurs candidats.

Des critères de classement précliniques pourraient inclure des facteurs comme :

- Type de réaction immunitaire induite par le candidat.
- La capacité à produire une forme fonctionnelle et stable de l'antigène.
- La capacité de mesurer les effecteurs de l'immunité in vitro.
- Les formulations potentielles du candidat.
- La capacité à fournir et à produire le candidat.

Les chercheurs devraient alors appliquer ces critères pour classer des vaccins candidats, particulièrement ceux basés sur les mêmes antigènes, d'une façon objective. Tandis que cette approche peut être la plus utile pour donner la priorité aux antigènes, adjuvants et aux formulations pour des vaccins de sous-unité, elle pourrait être étendue pour inclure d'autres stratégies de vaccination comme celles à base de vecteur ou des approches de parasite entier. Des critères de sélection systématiques ne garantiront pas le succès de candidats classés au sommet. En fait, donner la priorité à certains candidats entraîne le risque de retirer la priorité à un candidat qui pourrait en fin de compte offrir la meilleure protection.

Cependant, dans une communauté scientifique avec des ressources limitées et des corrélats de protection encore inconnus, développer et continuer à affiner une approche systématique et à base de preuves peut aider à concentrer les investissements sur les candidats qui semblent être la meilleure connaissance scientifique la plus prometteuse, donnée aujourd'hui. Tandis que des critères systématiques peuvent être utilisés pour informer, les décisions pour le développement clinique, et les critères ne devraient pas

disqualifier un candidat en tout et pour tout. Au lieu de cela, les critères pourraient aider à concentrer la recherche sur des antigènes mal jugés en identifiant des lacunes de connaissance, y compris les implications biologiques de variation polymorphe dans ce champ. Comme de nouveaux aperçus sont gagnés, les antigènes peuvent être réévalués pour leur potentiel. De plus, les critères de priorisation doivent être régulièrement passés en revue et révisés pour refléter la compréhension scientifique la plus avancée. (26)

3.3.2. VACCINS ANTIMALARIQUES : POUR QUOI ET POUR QUI ?

Le développement des vaccins antimalariques peut être approché par deux perspectives extrêmes. D'un côté, on trouve le vaccin qui doit protéger toutes les manifestations de la malaria chez les voyageurs ou les soldats ; de l'autre, on aspire à un vaccin qui protège surtout contre la malaria sévère et la mort chez les jeunes enfants et les femmes enceintes qui vivent dans les régions endémiques. Les modèles qui sous-tendent ces deux perspectives sont d'une part l'immunisation avec des sporozoïtes atténués par l'irradiation et d'autre part, 3-5 ans d'exposition continue au *Plasmodium falciparum* transmis naturellement. La première approche protège tous les épisodes cliniques pour au moins neuf mois et la seconde évite les maladies sévères et la mort tant que l'exposition naturelle est maintenue. En ce qui concerne les stades pré-érythrocytaires, les malariologistes ont longtemps pensé que les anticorps étaient seuls responsables de la protection induite par la vaccination à l'aide de sporozoïtes irradiés. (36)

3.3.3. LES DIFFÉRENTS TYPES DE VACCINS.

La sélection des vaccins repose sur des critères scientifiques (biologie / tests in vitro et in vivo), sur la qualité du produit recombinant (pureté/ stabilité), sur le rendement de production de la molécule, et sur son efficacité dans des tests in vitro puis in vivo chez des modèles animaux et chez l'homme.

L'administration des antigènes vaccinaux peut être effectuée sous la forme :

- de peptides synthétiques,
- de protéines recombinantes, génétiquement réalisées. Le vaccin contre l'hépatite B est un exemple de vaccin à base de sous-unités de protéines recombinantes efficaces. Ce vaccin a été conçu pour inciter une réponse immune maximale en anticorps (humoraux).
- de vaccins ADN qui contiennent les informations génétiques pour produire l'antigène du vaccin dans le destinataire du vaccin.
- ou de vecteurs vivants : les vaccins avec le parasite entier (le sporozoïte) atténué comme le composant principal du vaccin.

Enfin, des données d'efficacité venant du terrain seront bientôt disponibles. Elles permettront d'invalider ou de confirmer l'intérêt de la poursuite du développement d'antigènes vaccinaux potentiels.

Il est souvent considéré que des vaccins devront être combinés : plusieurs antigènes du stade sanguin et/ou des antigènes de différents stades. Il faudra alors établir

des critères de sélection des antigènes. Une combinaison de vaccins dirigés à la fois contre *P. falciparum* et *P. vivax* serait aussi utile dans de nombreux pays. (16)

3.3.4. POURSUIVRE LES APPROCHES MULTI-ANTIGÈNE, MULTI-STADE ET DE PARASITE ENTIER.

Étant donné la complexité de *P. falciparum* et la première étape de nombreux efforts de développement du vaccin, une diversité d'approches vaccinales devrait être poursuivie. Récemment, des vaccins candidats de sous-unité individuels sont la recherche principale, concentrent et constituent la majorité des concepts de vaccin anti malarique. Les résultats de la recherche dans des vaccins de sous-unité ont jusqu'à présent mené quelques scientifiques à croire que ces vaccins ne peuvent pas entraîner l'efficacité possible la plus grande. Ces candidats devraient être combinés avec d'autres candidats pour créer des vaccins multi-antigènes. Quelques scientifiques croient que de telles approches, avec des approches de parasite entiers atténués, peuvent offrir le potentiel le plus grand pour produire les vaccins fortement efficaces qui fournissent une protection à long terme dans des fixations épidémiologiques diverses.

Les vaccins multi-antigènes, visent probablement des stades différents du cycle de vie du parasite, et peuvent conférer une meilleure protection qu'un vaccin basé sur un seul antigène. Une approche peut être de poursuivre un vaccin ciblant plusieurs stades en combinant deux vaccins candidats partiellement efficaces qui ciblent des stades différents du cycle de vie du parasite pour permettre une efficacité complète plus grande par des effets de synergie ou d'addition. En fin de compte, de tels vaccins peuvent inclure des antigènes multiples du même stade du cycle de vie du parasite en accord avec des antigènes visant d'autres stades. Une telle approche peut aussi éviter l'échec de vaccin causé par des variations polymorphes dans des populations de parasite diverses. Cette méthode présente une formulation plus haute et la production coûte et entraîne des interactions plus complexes entre le vaccin et le système immunitaire. (26)

Le récent développement de techniques moléculaires visant à identifier, produire et étudier les différents antigènes de la malaria a permis la construction de sous-unités vaccinales. La stratégie est d'identifier les antigènes critiques de chaque stade du cycle, soit parce qu'ils sont essentiels pour le développement ou la survie du parasite, soit parce que les réponses immunologiques dirigées contre eux confèrent une certaine protection dans les modèles expérimentaux. La «meilleure» protéine peut ensuite être incluse dans un vaccin à un seul composant.

Une telle approche permet d'investiguer l'effet protecteur potentiel d'un antigène spécifique, mais ne va probablement pas déboucher sur la commercialisation d'un vaccin efficace, spécialement si les protéines choisies possèdent différents variantes de la même structure au sein de la population parasitaire circulant dans la communauté. Une autre complication de l'approche d'un vaccin à un seul composant est l'hétérogénéité génétique des populations humaines, avec une possible restriction des réponses à certains groupes pour un peptide particulier. L'option privilégiée actuellement est de combiner plusieurs antigènes de différents stades du parasite avec l'induction d'un spectre large de réponses immunes. De tels vaccins à sous-unités peuvent contenir des protéines natives

purifiées, des peptides synthétiques ou des protéines recombinantes, qui correspondent à un gène complet ou à plusieurs épitopes choisis. (36)

Néanmoins, la façon d'évaluer ces vaccins n'est pas claire. Il y a essentiellement deux stratégies : de bas en haut et de haut en bas. L'approche de bas en haut validerait d'abord chaque antigène séparément et créerait alors une combinaison des antigènes que l'on a montrée pour être efficace, qui fait ralentir le développement, mais évite l'interférence entre des antigènes et économise de l'argent. L'approche de haut en bas commence à évaluer un vaccin de combinaison, qui est beaucoup plus rapide, mais augmente le coût, l'interférence possible entre des antigènes et le potentiel pour des événements défavorables liés au nombre d'antigènes. Si la combinaison est efficace, il sera difficile de savoir lequel des antigènes sont ceux qui confèrent la protection et lequel est inutile. Le but pour l'avenir du développement de vaccins doit produire un vaccin de multi-antigène, par exemple, ajouter d'autres antigènes au RTS, S le vaccin, qui est le candidat le plus avancé. (37)

Les vaccins contiennent des antigènes qui servent de cibles pour le système immunitaire. Des cibles antigéniques différentes sur le parasite sont exprimées aux différents stades de son cycle de vie et la diversité génétique entre des souches de parasite font naître d'autres antigènes immunologiquement distincts. Les parasites se sont aussi adaptés au système immunitaire humain et ont appris à le « piéger ». Ces facteurs compliquent le processus de détermination d'antigènes utilisable dans des formulations de vaccins.

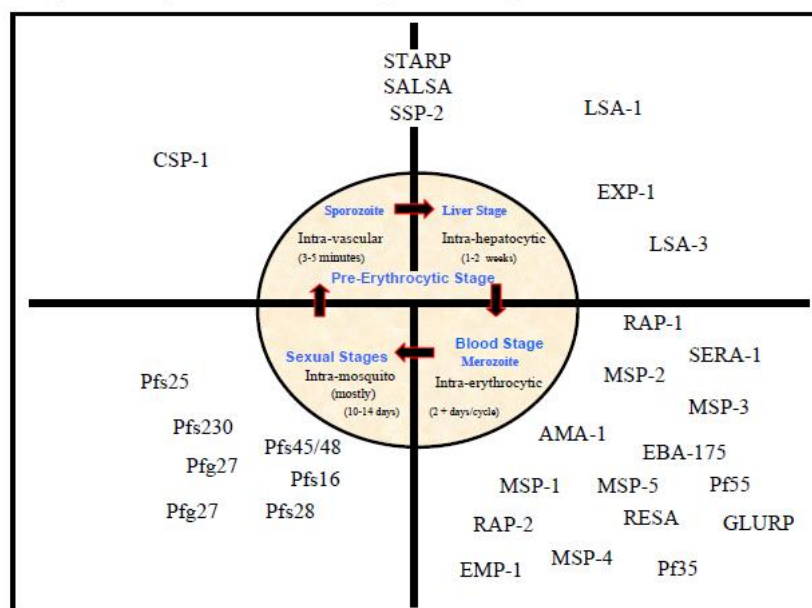


Figure 14 : les différents antigènes exprimés par *Plasmodium falciparum* en fonction du stade (Source : Malaria Vaccine Initiative at path).

Les effets du vaccin vont dépendre de(s) l'antigène(s) choisi(s). Beaucoup de personnes pensent que le vaccin suprême aura des composants des multiples stades du cycle de vie du paludisme.

Si un vaccin pré-érythrocytaire est 100 % efficace, l'hôte ne tombera pas malade. Ce type de vaccin pourrait être le plus utile aux gens voyageant dans des pays endémiques de la malaria. Quoiqu'il en soit, si un vaccin pré-érythrocytaire est moins efficace, et si un seul sporozoïte émerge du foie, l'hôte développera la malaria généralisée.

Malgré cela, il y a des preuves que si le nombre de sporozoïtes qui atteint le foie est réduit, la maladie résultante pourrait être moins sévère.

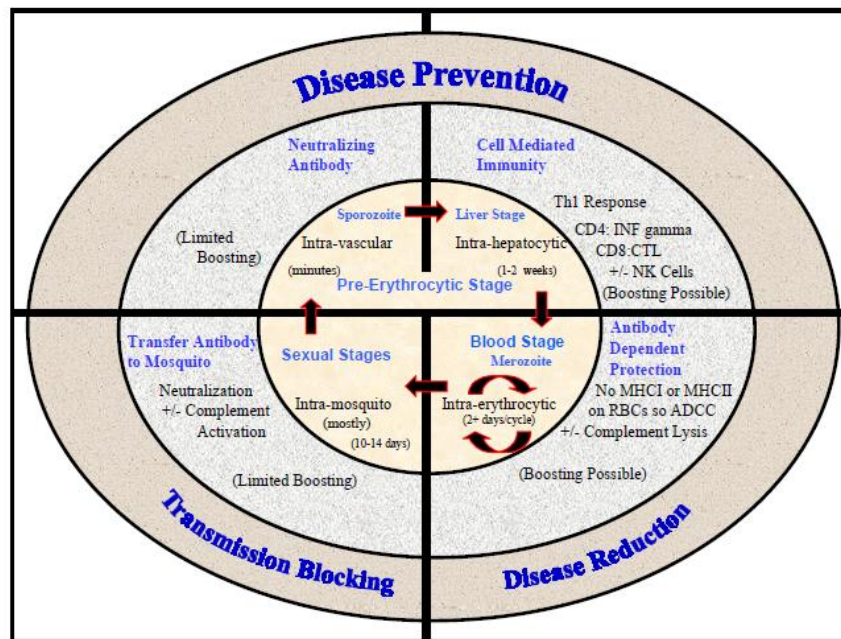


Figure 15 : les effets des vaccins (Source : Malaria Vaccine Initiative at path).

Un vaccin qui contient des antigènes du stade érythrocytaire imitera l'immunité qui se développe chez les gens vivant dans des zones endémiques de la malaria. Le système immunitaire sera concentré d'une telle façon quant à l'impact sur le mérozoïte comme s'il continuait son cycle de réplication. L'hôte contractera quand même la malaria et tombera toujours malade, mais la sévérité et la mortalité de la maladie seraient réduits. C'est le type de vaccin qui pourrait être le plus approprié pour des enfants et des adultes vivant dans des pays endémiques.

Des vaccins bloquant la transmission n'empêcheront pas l'hôte de contracter la malaria, ils ne diminueront pas non plus les symptômes de la maladie. Ils empêcheront cependant n'importe quels moustiques qui se nourrissent de l'hôte de transmettre la malaria à de nouveaux hôtes. Dans le monde entier, le développement du vaccin se concentre sur ces trois types de vaccins : pré-érythrocytaire, érythrocytaire et bloquant la transmission. Tous les trois types ont été évalués parmi la population et certains ont tenu leur promesse. Comme noté ci-dessus, le vaccin antimalarique optimal combinera probablement des antigènes des trois stades du parasite. L'obtention impliquera là des études complexes en laboratoire et dans le domaine pour prouver que les antigènes et les réactions immunitaires n'agissent pas réciproquement de façon indésirable. Beaucoup de vaccins candidat avec un seul antigène sont prêts pour les essais cliniques et les études de combinaison sont planifiées. Le déploiement d'un vaccin antimalarique efficace prendra plusieurs années, mais cela arrivera. (20)

Le développement de vaccin **avec le parasite entier** n'est pas nouveau dans le développement du vaccin. Cette approche a été utilisée auparavant par Clyde, Rieckmann et leur équipe qui ont montré un effet protecteur d'une vaccination par des sporozoïtes atténués par une irradiation. Cette approche n'a pas pu être poursuivie car il fallait plus de 1000 piqûres de moustiques infectés pour obtenir un effet protecteur. En plus, il est impossible de produire des parasites de la malaria à large échelle en raison de problèmes de sécurité, vu que les *Plasmodia* doivent être cultivés à partir d'hépatocytes ou d'érythrocytes humains qui peuvent être contaminés par un agent infectieux de l'hôte. (36)

Cependant, les vaccins basés sur des parasites de malaria atténués font face à des obstacles significatifs parce qu'ils sont difficiles à caractériser et à fabriquer dans de grandes quantités. Les cultures *in vitro* de sporozoïtes sont nécessaires pour soutenir la nouvelle exploration de ces concepts. Tandis que les obstacles associés à ces approches sont des technologies significatives, nouvelles, comme l'atténuation génétique de sporozoïtes, de nouvelles méthodes pour produire un plus grand nombre de sporozoïtes et l'achèvement d'un essai de stade hépatique à dose basse chez des volontaires naïfs offrent de nouvelles promesses pour des percées possibles. Des outils analytiques améliorés tiennent maintenant compte de la caractérisation plus complète de concepts de vaccin de parasite entier et des essais humains utilisant des parasites génétiquement atténués sont nécessaires. Tandis que des questions réglementaires et de sécurité subsistent, quelques scientifiques croient que les vaccins candidats utilisant le parasite entier sont faisables et méritent une attention continue de par leur efficacité démontrée. (26)

3.3.5. ADMINISTRATION DE PEPTIDES OU DE PROTÉINES.

Les peptides synthétiques représentent une approche particulièrement attractive car ils peuvent être produits à large échelle dans des conditions très bien contrôlées. De ce fait, leur profil de sécurité est élevé. Bien que des avancées récentes aient permis la production de peptides linéaires de plus de 100 acides aminés, l'importance de l'information antigénique qui peut être incluse est toujours relativement modeste si l'on considère la multitude des antigènes potentiels. Une configuration spatiale correcte des peptides est aussi difficile à obtenir artificiellement, ce qui peut diminuer l'immunogénicité de ce type de vaccin. Finalement, la restriction génétique des réponses immunes de l'hôte peut aussi être un problème dans certaines populations.

Une large expérience avec des peptides synthétiques a été obtenue grâce aux essais menés par le groupe du Dr Patarroyo en Colombie à l'aide du vaccin SPf66. Plus récemment, des peptides plus complexes, appelés peptides à antigènes multiples, contenant des répétitions d'épitopes de la protéine du circumsporozoïte, ont été développés et ont montré une meilleure immunogénicité que les peptides linéaires. L'utilisation d'adjuvants plus puissants a permis une amélioration notable de l'immunogénicité de ces peptides synthétiques par rapport à celle obtenue avec l'hydroxyde d'aluminium. Un vaccin contenant la région C terminale du sporozoïte mélangée à une émulsion d'huile et d'eau a induit des réponses humores spécifiques solides associées à une prolifération lymphocytaire importante, développement de cellules CD8 et production *in vitro* d'interféron- notamment, deux réponses nécessaires pour l'élimination du stade hépatique de *Plasmodium falciparum*.

Les protéines obtenues par recombinaison génétique représentent un progrès majeur dans le développement vaccinal de ces quinze dernières années. Plusieurs systèmes d'expression sont maintenant disponibles pour produire des protéines recombinantes. L'expression de protéines étrangères peut maintenant être obtenue à l'intérieur de bactéries, de virus, de levures ou de culture de cellules de mammifères. Si l'on utilise le micro-organisme approprié, il est possible d'obtenir une large quantité de protéines dans leur conformation native avec un grand degré de pureté.

Récemment, une protéine recombinante du sporozoïte produite dans une levure et fusionnée avec l'antigène S de l'hépatite B (RTS,S) a donné des résultats prometteurs chez l'humain. De même, un vaccin qui a utilisé trois protéines recombinantes du stade sanguin asexué, à savoir MSP1, MSP2 et RESA (antigène du trophozoïte en anneau) exprimées dans *Escherichia coli* a également donné de bons résultats.

3.3.6. LES VACCINS À ADN.

La génération la plus récente de vaccins de sous-unités est basée sur l'ADN. Des séquences d'ADN de *P. falciparum* ont été insérées dans des molécules d'ADN plasmiques (des vaccins d'ADN) ou dans divers virus d'ADN recombinants atténués (vaccins viraux atténués) pour produire des vaccins candidats. Les vaccins d'ADN sont pris par des cellules hôtes, la protéine est exprimée et les épitopes des cellules T se lient aux molécules HLA des cellules T naïves principales pour former une population de cellules T mémoires. Les vaccins viraux recombinants fonctionnent de façon semblable, mais infectent activement les cellules et expriment les protéines recombinantes de la malaria avant d'empêcher l'infection. Les vaccins à ADN et les vaccins de sous-unité viraux recombinants peuvent inciter de hauts niveaux de cellules T effectrices, bien que les réponses en anticorps aient été faibles lors des essais cliniques. L'évaluation des réponses des cellules T a été révolutionnée par la technique ELISPOT. C'est une technique hautement sensible pour détecter quantitativement les antigènes spécifiques fonctionnels des cellules T. Ces avancées dans des essais, ensemble avec ceux de la vaccination à base de sous-unités dans la malaria, augmentent la possibilité d'identifier des anticorps robustes ou, autrement dit, l'explication d'un tel niveau de protection chez les vaccins en partie efficaces fournissent leur niveau de protection. (32)

Des vecteurs vivants comme les poxvirus, le BCG et les souches atténuées de *Salmonella*, permettent de sauter l'étape fastidieuse de la production et de la purification des immunogènes puisque c'est le vecteur qui les exprime chez l'hôte. Le vecteur vivant le plus étudié est le virus recombinant de la vaccine qui permet l'insertion de longs fragments d'ADN étranger et qui peut se reproduire dans le cytoplasme de la cellule hôte humaine. Le vaccin consiste ainsi en un micro-organisme génétiquement modifié qui produit la protéine désirée dans une cellule de la personne vaccinée.

Le premier vaccin contre la malaria produit dans un vecteur vivant a consisté en un virus de la vaccine hautement atténué avec l'insertion de sept gènes du *Plasmodium falciparum* dans son propre génome (stade de sporozoïte, CS, SSP2/TRAP ; stade hépatique : LSA1 ; stade sanguin asexué : MSP1, AMA1, SERA ; stade sexué : Pfs25). Ce vaccin à multiples composants de plusieurs stades, appelé NYVAC-Pf7, n'a pas conféré de protection

significative contre les épisodes de malaria, mais a, par contre, conduit à un certain délai dans l'apparition de la parasitémie parmi les personnes vaccinées comparées aux placebos.

Les vaccins à ADN stricto sensu représentent la stratégie de vaccination la plus récente, c'est-à-dire l'immunisation avec de l'ADN ou de l'ARN qui code pour un ou plusieurs antigènes du parasite. Ces polynucléotides sont directement introduits dans les tissus de l'individu dont les cellules vont exprimer la protéine requise, ce qui permet d'éviter les difficultés liées à la production et à la formulation d'une protéine classique.

Les avantages théoriques des vaccins à ADN sont multiples :

- 1) les antigènes sont produits dans leur forme native et permettent une meilleure utilisation par le système immunitaire ;
- 2) des réponses cellulaires cytotoxiques peuvent être induites, de même que la prolifération de cellules CD8 ;
- 3) les vaccins sont faciles à produire, à purifier, à modifier et à combiner ;
- 4) ils peuvent induire une immunité à long terme ;
- 5) ils sont censés nécessiter un nombre de doses limité. En fait, ces avantages théoriques n'ont pas été observés dans la réalité des essais cliniques jusqu'à maintenant. En plus, quoique peu probable, il est toujours possible qu'une partie de l'ADN étranger soit incorporée dans les chromosomes de l'hôte avec le danger d'une transformation potentielle. Les vaccins à ADN peuvent aussi théoriquement induire la production d'anticorps anti-ADN et ainsi peut-être le développement de maladies auto-immunes. Les programmes de développement vaccinaux récents, pas seulement dans le domaine de la malaria, évaluent ces risques et les balancent contre les bénéfices potentiels.

A la suite d'essais expérimentaux chez des singes Aotus, les vaccins à ADN incluant des stades pré-érythrocytaires ont montré un excellent profil de sécurité dans des études de phase I ainsi que l'induction de cellules cytotoxiques et d'interféron-. Les réponses humorales étaient par contre quasi nulles. Une combinaison de cinq plasmides codant pour les gènes du *Plasmodium falciparum* CSP, SSP2/TRAP, EXP-1, LSA-1, LSA-3 administrés avec ou sans un plasmide qui exprime le GM-CSF humain est en cours d'investigation dans une étude de phase IIa aux Etats-Unis. Une version améliorée de ces plasmides est censée être testée l'année prochaine aux Etats-Unis et au Ghana, soit comme ADN nu avec rappel au moyen de protéines recombinantes, soit après rappel avec un poxvirus qui exprime les mêmes protéines. (35)

3.3.7. VACCINS ANTITOXINES.

En plus de ces approches, de nouvelles approches actuellement entreprises incluent le développement d'un vaccin antitoxine qui cible les toxines de parasite qui contribuent à la maladie, comme le glycosylphosphatidylinositol (GPI). Des résultats prometteurs récents obtenus à partir de sporozoïtes chez des souris mèneront probablement à de nouveaux événements au cours des prochaines années. (15)

3.3.8. STRATÉGIES DE VACCINATION « PRIME-BOOST ».

L'utilisation de ces vaccins produit seulement des réactions immunitaires très modestes. Cependant, cette réaction immunitaire peut être significativement augmentée

quand un type de vaccin est utilisé "pour primer" le système immunitaire et un deuxième vaccin différent (codant les mêmes informations génétiques) sont utilisées pour "augmenter" la réponse. La réponse à la vaccination est mesurée en comptant les T-cellules qui sécrètent une cytokine (un produit chimique sécrété par une cellule qui agit sur une cellule voisine) appelé le gamma interféron. Il est montré que l'ordre de vaccination est critique quant à l'optimisation des résultats. (31)

3.4. LES VACCINS À L'ÉTUDE.

Cibles biologiques	Type ^a	Phase des études cliniques ^b				Potentialité d'application future ^c		Références principales (disponibles sur demande auprès de l'auteur)
		I	II a	II b	III	Voyageurs	Régions endémiques	
Vaccins du stade pré-érythrocytaire								
Stade du sporozoïte								
– Protéines CS	A R, D, SP	+	+	–	–	Aucune Moyenne	Aucune Moyenne	Clyde 1973, Rieckmann 1974 Ballou 1987, Herrington 1987, Fries 1992, Stuerchler 1992, Wang 1998, Nardin 2000, Lopez 2001
– SSP2 dans un vaccin à 5 composés	D	+	–	–	–	?	?	Hoffman et Doolan 2000
– RTS,S	R	+	+	+	–	Haute	Moyenne	Stoute 1997, 1998, Bojang 1999
– RTS,S + TRAP	R	+	+	–	–	Aucune	Aucune	Heppner et Cohen (non publié)
Stade hépatique								
– LSA1 dans NYVAC-Pf7	D	+	–	–	–	Moyenne	Moyenne	Ockenhouse 1998
– LSA-3 dans vaccin à 5 composés	D	+				?	?	Hoffman et Doolan 2000
Vaccin du stade érythrocytaire								
Stade sanguin asexué								
– MSP1+MSP2+RESA	R	+	+	+	–	Moyenne	Haute	Genton 2000, Genton 2001 (soumis)
– MSP1(19)	R	+	–	–	–	?	?	Keitel 1999
– AMA-1	R	+	–	–	–	?	?	Anders (non publié)
– RAP-1	R	+	–	–	–	?	?	
– EXP-1 dans vaccin à 5 composés	D	+	–	–	–	?	?	Hoffman et Doolan 2000
Vaccin du stade sexué								
Stade du gamétocyte								
– Pfs-25 dans NYVAC-Pf7	D	+	+	–	–	Aucune	Basse	Ockenhouse et al. 1998
Vaccin à multiple stades								
– SPf66	SP	+	+	+	+	Aucune	Aucune	Graves 1997, Acosta 1999
– NYVAC-Pf7	D	+	+	–	–	Moyenne	Moyenne	Ockenhouse 1998
– Vaccin à polypeptides	D	+	+	+	–	?	?	Gilbert 1997
– Vaccin à ADN à 5 composés	D	+	–	–	–	?	?	Hoffman et Doolan 2000

Tableau 2. Status des études cliniques chez l'humain en fonction des différentes cibles biologiques.

Adapté de Tanner 2001 (12)

a: Type de vaccin: A = organisme atténué, R = protéine recombinante, SP = peptide synthétique, D = vaccin à ADN.

b: Vaccin testé (+) ou non testé (–) dans les études de phase I, IIa, IIb et III.

c: Potentialité d'application pratique du vaccin sur la base des résultats déjà obtenus et sur les fondements théoriques. L'évaluation considère l'application dans les régions d'endémie et pour les voyageurs. Quatre niveaux d'application ont été choisis, c'est-à-dire aucune, basse, moyenne, haute.

Figure 16 : les vaccins à l'étude (Source : Malaria Vaccine Initiative at path).

3.4.1. PROJECTIONS.

Des événements prometteurs récents ont permis de nouveaux espoirs quant au développement d'un vaccin contre le paludisme. Dans une tentative d'imiter l'immunité naturellement acquise, un portfolio impressionnant de vaccins de sous-unité contre le sporozoïte et les protéines superficielles majeures du mérozoïte a été développé durant les deux dernières décennies. Un d'entre eux, le vaccin de sous-unité pré-érythrocytaire basé sur la protéine CSP, RTS/S, est récemment entré dans la phase III des essais cliniques partout en Afrique. Les parasites génétiquement atténués et les anticorps bloquant la transmission offrent l'avantage qu'ils incitent l'inhibition complète du cycle de vie du Plasmodium, un

scénario jamais vu dans le domaine. Si ces stratégies composées peuvent être amenées aux pays endémiques de la maladie et sont sûres et accessibles, ils peuvent en fin de compte devenir des outils de santé publique importants contre une des maladies infectieuses les plus mortelles et les plus élusives. En attendant, l'envergure mondiale de la triade conventionnelle, c'est-à-dire des programmes de contrôle vectoriel, la prophylaxie d'exposition et la gestion clinique, comme suggéré par Ronald Ross il y a presque un siècle, doit être soutenue. (38)

La liste des candidats vaccins en étude aujourd'hui qui suit reste exhaustive, étant donnés les nombreux essais en cours. Nous nous limiterons aux plus prometteurs.

3.4.2. VACCINS PRÉ-ÉRYTHROCYTAIRES :

Le vaccin idéal pour ce stade devrait induire de hauts titres en anticorps fonctionnels contre les sporozoïtes pour empêcher tous les parasites d'entrer dans le stade hépatique et inciterait les lymphocytes T cytotoxiques à une puissante immunogénicité contre ce stade pour tuer les hépatocytes infectés, tant que le parasite ne nuit pas à l'hôte humain. Le principal candidat vaccin de ce type est RTS, S –un vaccin de protéine recombinante. L'ADN de l'antigène de surface de l'hépatite B a été fusionné à un ADN codant une grande partie du meilleur antigène pré-érythrocytaire et caractéristique de la malaria : la protéine circumsporozoïte (CS), une fraction de la protéine C-terminale d'un isolat de *Plasmodium falciparum*. Quand elle est exprimée dans la levure, le produit de fusion (RTS) se lie à l'antigène de surface de l'hépatite B (S) pour former des particules RTS, S. Ces particules sont mélangées avec un adjuvant, AS02 (un mélange de lipide A monophosphorylé et desacétylé ; QS21 et une émulsion) et injectées en intramusculaire à deux ou trois occasions. La vaccination par RTS, S incite un haut titre en anticorps contre CS et contre hépatite B et entraîne une protection de 30 à 60 % contre les parasites de la même souche que le vaccin dans un modèle de défi. Dans ce modèle, des gens vaccinés venant de pays développés (des Etats-Unis et d'Europe) sont piqués par cinq moustiques infectés par la souche 3D7 de *P. falciparum*, qui est sensible à la chloroquine. Les volontaires sont contrôlés de près par des frottis sanguins ou par des techniques PCR et traités promptement lorsque le stade sanguin est détecté par microscopie.

Sous réserve de l'obtention des accords des autorités réglementaires tout est prêt pour le lancement – dès le début de l'année 2009 et en Afrique – d'une étude de phase III du candidat-vaccin RTS,S/AS01 de la multinationale GlaxoSmithKline (GSK) Biologicals. Cette nouvelle et encourageante avancée s'inscrit dans le cadre d'un partenariat public-privé original largement soutenu par la «Fondation Bill & Melinda Gates». Rappelons que ce vaccin a été inventé, développé et fabriqué dans des laboratoires de GSK Biologicals, en Belgique, à la fin des années 1980. Il a ensuite été initialement testé chez des volontaires américains, dans le cadre d'une collaboration avec l'Institut de recherche Walter Reed de l'Armée américaine. Par la suite, un premier essai de phase I/IIb avait été mené au Mozambique dont les résultats avaient été publiés il y a un an dans The Lancet.

Quels sont, dans le détail, ces nouveaux résultats ? La première étude a été réalisée en Tanzanie auprès de 340 nourrissons âgés de moins de 12 mois. Elle montre que RTS,S/AS02, administré à 8, 12 et 16 semaines – et ce conjointement aux vaccins

pédiatriques existants – n’interfère pas avec les réponses immunitaires des différents composants du vaccin co-administré contenant des antigènes contre la diphtérie (D), le tétanos (T), la coqueluche (C) et l’infection à *Haemophilus influenzae* de type B (Hib). Dans les pays d’Afrique où un vaccin antipaludique serait le plus utile, le Programme élargi de vaccination (PEV) des nourrissons de l’OMS fournirait une plate-forme optimale d’administration.

«Les chercheurs ont évalué la tolérance et les réponses immunitaires, lors de l’administration du vaccin RTS,S/AS02 au sein du programme. Il s’agit d’un essai randomisé en double aveugle avec des nourrissons recevant simultanément le RTS,S/AS02, le vaccin DTP avec Hib, ainsi qu’un vaccin antipoliomyélitique oral ou un vaccin contre l’hépatite B, DTP avec Hib, résume-t-on auprès des promoteurs de ce travail. L’étude a montré une efficacité de 65% contre les infections par le paludisme chez les nourrissons ayant reçu trois doses du vaccin RTS,S/AS02 et ayant été suivis sur une période de six mois.» Cette étude corrobore les résultats publiés en octobre 2007, dans *The Lancet*, qui ont montré un niveau similaire d’efficacité pour le RTS,S/AS02, lorsqu’il était administré conjointement au vaccin DTP avec Hib.

L’autre essai réalisé au Kenya et en Tanzanie a été mené auprès de 894 enfants, âgés de 5 à 17 mois. L’objectif principal était d’évaluer la tolérance et l’efficacité de RTS,S, combiné à un autre système d’adjuvant (breveté par GSK) et nommé AS01. Il s’agissait d’un essai clinique randomisé en double aveugle, dans lequel les enfants ont reçu soit trois doses du candidat-vaccin RTS,S/AS01, soit un vaccin antirabique.

«L’essai a montré que RTS,S/AS01 réduisait le risque des épisodes cliniques de paludisme de 53%, sur une période moyenne de huit mois, résumant les auteurs. Des études antérieures réalisées chez les enfants de 1 à 4 ans au Mozambique et utilisant RTS,S formulé avec un autre Système d’Adjuvant de GSK (AS02), ont démontré un taux d’efficacité de 35% contre les épisodes cliniques sur une période de 18 mois.» Les résultats sont donc en faveur de l’utilisation du RTS,S/AS01 pour les prochains essais de phase III. (39)

Plusieurs autres vaccins candidats pré-érythrocytaires ont atteint le stade de l’évaluation clinique : ICC-1132 est évalué dans différentes formulations aux Etats-Unis, en Allemagne et au Royaume-Uni.

ICC-1132 est une particule fondamentale de l’hépatite B, génétiquement réalisée pour inclure une région de la protéine CS afin d’induire un haut titre en anticorps. Ces hauts titres d’anticorps biologiquement actifs ont été étudiés précliniquement et des essais cliniques ont commencé.

Une autre approche est la vaccination hétérologue en deux temps. Deux vecteurs de vaccins différents encodant le même antigène sont délivrés de façon séquentielle. Des vecteurs viraux peuvent être administrés en premier (l’amorçage) ou en deuxième intention (booster); les vaccins à ADN sont des vaccins d’amorçage efficaces, mais pas en tant que booster.

Trois vecteurs ont été cliniquement évalués :

- un vecteur à ADN;
- la vaccine modifiée du virus Ankara (MVA);
- et le poxvirus FP9 atténué, déjà utilisé pour vacciner des poulets contre le fowlpox.

L'insert inclut la protéine adhésive appelée thrombospondine (TRAP) -un antigène pré-érythrocytaire bien caractérisé- et une série d'épitopes des lymphocytes T (appelé ME pour de multiples épitopes); on donne ces vaccins ME-TRAP en tant que boosters - c'est-à-dire :

- le vecteur à ADN puis la MVA, ou
- FP9 et enfin MVA.

Cette approche incite de hautes réponses en cellules T et peu de protection, expliquée par un retard substantiel de la parasitémie. Un essai à l'aveuglette, contrôlé, de l'efficacité du vecteur à ADN et de ME-TRAP suivi par MVA et ME-TRAP a été achevé en Gambie avec 372 volontaires adultes. MVA encodant la protéine CS donné avant ou après RTS, S est évaluée dans des études de phase I et II au Royaume-Uni.

Des efforts intenses ont été faits pour développer des vaccins à base d'ADN efficaces au stade hépatique et au stade érythrocytaire. Des vaccins d'ADN divers, chacun codant un antigène pré-érythrocytaire, ont subi des études de phase-I. Un mélange de cinq vaccins à ADN pré-érythrocytaires ont été administrés dans des études de phase-I, mais aucune preuve de protection n'a été notée. Les vaccins à ADN exigent une augmentation virale incitant une immunogénicité via les cellules T élevée chez les macaques aussi bien que chez l'humain; l'induction d'anticorps chez l'être humain est généralement très bas après une vaccination à ADN, par contraste avec quelques modèles animaux.

D'autres vaccins candidats basés sur la protéine CS ont été évalués dans des études de phase-I incluant :

- un peptide d'antigènes multiples,
- un type de système de livraison synthétique, qui a incité des réponses en anticorps fortes;
- un polyoxime construit, contenant des épitopes de cellules T universels; et
- un long peptide synthétique dans un adjuvant à base d'huile, qui a entraîné des anticorps détectables CD4 + et CD8 + des réponses en cellules T avec un bon profil de sécurité. (32)

3.4.3. VACCINS DE PARASITE ENTIER:

Le premier et encore sans égal succès dans l'incitation de réactions immunitaires protectrices contre la malaria a été réalisé avec des sporozoïtes irradiés dans un des modèles de malaria chez le rongeur. L'immunisation de souris avec trois doses de sporozoïtes irradiés par des ondes gamma aboutit au développement amoindri du stade hépatique et met à jour une protection soutenue complète contre le défi sporozoïte. Analogue à d'autres vaccins vivants atténués, enrayer le stade hépatique du plasmodium incite probablement des réactions immunitaires cellulaires protectrices contre le répertoire antigénique entier de ce stade et peut être le vaccin contre la malaria le plus puissant. Mais

vaut-il la peine d'investir dans un vaccin vivant atténué complexe, par opposition à une stratégie de sous-unité économiquement plus viable qui est seulement limitée à quelques protéines cibles potentielles ?

La production à grande échelle d'un vaccin de parasite atténué peut en effet devenir faisable, parce que le maintien de la stérilité, sa cryoconservation et la voie d'immunisation, on déjà été prouvés ou sont en recherche active. D'autres obstacles relatifs à la sécurité et à la souche non définie des sporozoïtes génétiquement irradiés ont récemment été éradiqués par la génération de parasites atténués génétiquement (GAPs). Bien que la « version falciparum » puisse prendre plusieurs années, de premières études de défi chez l'humain avec des sporozoïtes irradiés indiquent que l'atténuation complète du développement du stade hépatique met à jour une protection - jusqu'à présent le meilleur niveau de développement de vaccin de *P. falciparum*. Les GAPs diffèrent des sporozoïtes gamma-irradiés dans leur production cohérente, leur stabilité génétique et leur haute puissance. Une question fondamentale est : est-ce que l'exposition naturelle à la transmission Plasmodium augmenterait les réactions immunitaires induites par les GAPs ? Si c'était le cas, un vaccin GAPs serait faisable pour des individus vivant dans un pays endémique de la malaria. Autrement, seulement des visiteurs occasionnels en profiteraient et les GAPs tomberaient dans la catégorie "de vaccins de boutique".

Sans tenir compte de la demande à grande échelle, les GAPs peuvent aussi devenir un modèle excellent pour étudier l'immunité cellulaire protectrice et peut ainsi mener à l'identification d'antigènes potentiellement protecteurs du stade hépatique. Ces antigènes pourraient alors être livrés intracellulairement comme l'ADN ou des vecteurs viraux. Une telle stratégie a été avancée pour la protéine anonyme thrombospondin-relié (TRAP) et évaluée dans la phase IIb des essais. Le manque observé de protection corrèle avec la diminution rapide d'expression des TRAP après l'invasion du sporozoïte et met en évidence le besoin de donner la priorité à des cibles de vaccin basées sur des critères immunologiques aussi bien que biologiques. (38)

Un antigène spécifique du stade hépatique, LSA-1, est présenté aux lymphocytes T cytolytiques par certaines cellules types HLA comme HLAB53. Cette cible a été identifiée par immunogénétique " inverse ", l'observation d'une meilleure protection contre le paludisme des sujets HLA-B53 et All ayant abouti à identifier les antigènes se fixant sur les molécules HLA de classe 1. (16)

3.4.4. VACCINS DE STADE ÉRYTHROCYTAIRE : INVASION ET COMPLICATION.

Il y a deux classes possibles de vaccin de stade érythrocytaire: « anti invasion » et « anti complication ». Un vaccin qui pourrait empêcher l'invasion des globules rouges par les mérozoïtes empêcherait la maladie. Le développement de tels vaccins a été gêné par le manque de modèles animaux disponibles et par peu de corrélats de protection immunologiquement clairs. La protéine 1 de surface du mérozoïte (MSP-1) est l'antigène le mieux caractérisé impliqué dans l'invasion et est la base de plusieurs vaccins candidats. Cependant, le développement de vaccin a été compliqué par la découverte de voies parallèles en ce qui concerne l'invasion, et par la manifestation élégante de quelques anticorps à MSP-1 qui peuvent bloquer l'activité des anticorps protecteurs de la malaria.

Dans une petite étude jugeant de son efficacité en Papouasie-Nouvelle-Guinée, un vaccin de stade érythrocytaire incorporant l'antigène MSP-2 et deux autres antigènes de ce stade a réduit la densité du parasite chez des volontaires. Les participants ont été plus protégés de l'infection, suggérant que pour des antigènes polymorphes comme MSP2, un vaccin incluant juste une forme allélique de l'antigène ne va probablement pas entraîner une protection suffisante.

Les vaccins basés sur MSP1.

MSP1, qui est impliqué dans l'invasion érythrocytaire par le parasite, subit plusieurs coupures protéolytiques au cours du processus de maturation du mérozoïte. Dans une première phase, sont ainsi produits quatre fragments peptidiques, parmi lesquels la partie C-terminale d'environ 42 kDa (MSP1-42) qui reste accrochée à la membrane du mérozoïte. Pendant la seconde phase, qui survient au moment même de l'invasion, MSP1-42 est lui-même scindé en deux fragments d'environ 33 kDa et 11 kDa (historiquement appelé MSP1-19). Cette dernière coupure est essentielle pour le succès de l'invasion, bien que le mécanisme du processus n'ait pas encore été élucidé.

Avant de faire des formulations avec des protéines natives recombinantes, MSP1 purifié a été évalué chez trois singes Aotus dans un défi pilote et s'est montré comme conférant une protection complète contre une inoculation de souches mortelles de *P. falciparum*. De part sa fonction centrale dans l'invasion du mérozoïte, MSP1 est sous une haute sélection naturelle aboutissant au maintien de variation allélique. Cependant, MSP1 est composé de quatre sous-unités et des variantes les plus naturelles. Donc, un mélange recombinant de codons de MSP1 intégrale est faisable et est actuellement en phase préclinique. En utilisant une formulation qui est conceptuellement semblable à RTS/S/ASOA2, des progrès récents ont été faits pour promouvoir un vaccin basé sur le fragment C-terminal p42, appelé protéine 1 de la malaria par falciparum (FMP1). La sureté encourageante et les profils d'immunogénicité de FMP1/AS02A ont permis son entrée dans la phase IIb des essais. Cependant, le choix du fragment C-terminal p42 entraîne une problématique en absence d'une association claire avec la protection.

Deux cibles supplémentaires se détachent parmi ces fragments de la surface du mérozoïte et des protéines sécrétées et sont actuellement développées plus intensivement pour des essais de vaccin : la protéine superficielle 3 du mérozoïte (MSP3) remplit beaucoup de critères cruciaux pour un vaccin candidat potentiel :

- (a) l'induction de réactions immunitaires protectrices chez le singe Aotus défiant le modèle,
- (b) la preuve directe d'un mécanisme effecteur par un processus démontré d'inhibition cellulaire anticorps-dépendante
- (c) des réponses naturelles allèle-spécifiques avec une protection contre la malaria clinique.

L'antigène 1 de la membrane apicale constitue un vaccin potentiel à plusieurs stades en soi parce qu'il semble jouer des rôles importants tant pendant l'infraction des cellules hôtes par le mérozoïte que par le sporozoïte.

Var2CSA - un cas pour un vaccin de sous-unité fait sur mesure.

Une caractéristique typique des infections du stade érythrocytaire par *P. falciparum* est la présence d'antigènes codés du parasite sur la surface des érythrocytes infectés. Ces antigènes superficiels variables (VSAs) entraînent par médiation l'adhérence d'érythrocytes infectés aux cellules endothéliales et sont responsables de complications cliniques dans l'infection de la malaria. Néanmoins, ils mettent aussi à jour des réactions immunitaires protectrices fortes. L'explication la plus directe est que la reconnaissance itérative des VSAs vis-à-vis de l'exposition continue au Plasmodium aboutit finalement à l'immunité naturellement acquise contre la maladie sévère. La famille la mieux caractérisée de VSAs est la famille de gène var, qui code pour environ 60 protéines différentes de la membrane de l'érythrocyte de *P. falciparum* (PfEMP1s) ; elle subit une variation antigénique clonale. Ce répertoire antigénique remarquable explique partiellement la cinétique lente de l'immunité naturellement acquise et pose d'énormes problèmes pour la recherche de vaccin. À moins qu'une sous-fraction du PfEMP1s le plus délétère ne puisse être identifiée, mimer l'immunité naturelle avec des sous-unités basées sur PfEMP1 demeure une vision éloignée – excepté pour une variante structurellement distincte de PfEMP1, appelée antigène superficiel variable 2, Chondroïtin sulfate A-binding (var2CSA).

Des hauts titres en anticorps corrélaient spécifiquement avec la protection contre la malaria associée à la grossesse, qui est accompagnée de complications sérieuses avec des petits poids de naissance et l'accouchement prématuré en raison de la séquestration placentaire. Bien que d'autres VSAs contribuent probablement à la pathologie, un vaccin basé sur var2CSA peut inciter des réactions immunitaires maternelles protectrices substantielles semblables à ceux détectés chez des femmes après plusieurs grossesses. (38)

La récente étude de phase IIb avec le vaccin Combinaison B en Papouasie-Nouvelle-Guinée a également fourni des résultats prometteurs. Trois protéines recombinantes du stade sanguin asexué (MSP1+MSP2+RESA, un antigène du trophozoïte en anneau) ont été mélangées à l'adjuvant Montanide ISA 720 (SEPPIC, France) et injectées à 120 enfants âgés de 5-10 ans. Ce vaccin a montré une efficacité de 62% pour réduire la densité parasitaire. Les personnes vaccinées avaient une prévalence réduite d'infection constituée par des parasites porteurs de la forme allélique 3D7 du MSP2 (correspondant au type inclus dans le vaccin), ce qui suggère que l'effet protecteur était conféré, en tout cas partiellement, par le composant MSP2. En ce qui concerne la morbidité, il n'y avait pas de différence sur l'incidence des épisodes cliniques de malaria entre les personnes vaccinées et les placebos, mais le pouvoir de l'étude n'était pas suffisant pour évaluer cette mesure de résultat considérée comme secondaire dans ce groupe d'âge qui n'est pas le plus susceptible pour la malaria. (40)

Un vaccin viral recombinant, NYVAC Pf-7 (*P. falciparum*-7), qui code sept antigènes divers de ce stade de cycle de vie a été développé. Les résultats d'une étude de NYVAC Pf-7 ont montré des retards encourageants de la parasitémie et un certain nombre

d'anticorps et de lymphocytes T cytotoxiques immunogènes, mais ce candidat n'a pas été conservé.

Deux candidats du stade érythrocytaire, se basant sur la protéine riche en glutamate (GLURP) et MSP3, ont été cliniquement évalués en Europe. Un problème-clé avec de tels candidats est l'identification d'un adjuvant immunogène et sûr, depuis le traditionnel adjuvant, l'alun, qui semble être insuffisamment immunogène. De plus, les vaccins avec un adjuvant type alun incitent une réponse Th2 (ces lymphocytes produisent de l'IL3, 4, 5, 6 et 10. Ces cytokines permettent de favoriser la synthèse des Ig E (IL4 et 10), le développement et l'attraction des éosinophiles (IL 5 et 6), de stimuler l'hématopoïèse (IL3). De plus l'IL4 et 10 inhibent la prolifération des Th2), plutôt qu'une réponse Th1 (ces lymphocytes sécrètent de l'IL2, 3 de l'INF- γ et du TNF- β . Ces cytokines sont responsables d'une activation des cellules B, T, CTL et NK, d'une prolifération et différenciation des cellules B, d'une stimulation à la présentation des antigènes. L'INF- γ inhibe la prolifération des Th2) généralement plus désirable. L'induction d'anticorps biologiquement appropriés est un nouveau défi et il est incertain que cela exigera une conformation natale de la protéine recombinante.

Une autre approche de la conception de vaccin de stade érythrocytaire a été suggérée par la démonstration d'une réponse en cellules T aux antigènes de ce stade et peut être protectrice dans des modèles animaux ; et par la découverte que des volontaires humains peuvent être protégés contre l'infection par l'immunisation avec de faibles doses de parasites de stade érythrocytaire qui n'incite pas d'anticorps détectables. Le développement de modèles de défi à ce stade et la disponibilité croissante de nouveaux antigènes, devraient mener à un nombre croissant d'études cliniques de vaccins candidats de stade érythrocytaire.

La séquestration de *P. falciparum* par son adhérence aux cellules endothéliales vasculaires dans le cerveau, les reins et le placenta est une cause importante de la malaria sévère. L'antigène PfEMP-1 (protéine 1 de la membrane érythrocytaire), le ligand principal pour une telle adhérence, est étudié en tant que vaccin candidat. Cependant, son haut degré de variabilité, le taux rapide de variation antigénique et la grande multiplication du nombre de parasites compliquent le développement de ce vaccin, bien que quelques chercheurs pensent que l'utilisation d'une partie de l'antigène pourrait être une approche prometteuse. À la rupture du schizonte, des médiateurs de l'inflammation sont libérés, menant à beaucoup de manifestations sévères de la maladie. La molécule de glycosyl phosphatidyl inositol (GPI) est un candidat principal à ce médiateur, la toxine de malaria prétendue. L'immunisation avec la GPI de *P. falciparum* chez des souris alors protégées des manifestations sévères de la maladie pourrait ouvrir la voie vers un vaccin clinique efficace, bien que cette découverte ne soit pas reproductible par d'autres chercheurs. (32)

AMA1 est une protéine membranaire produite par les organelles apicaux du mérozoïte. Pendant l'invasion érythrocytaire, la protéine se répartit sur toute la surface du parasite et, de même que MSP1, subit une série de coupures protéolytiques. Bien que la fonction d'AMA1 ne soit pas encore bien caractérisée au niveau moléculaire, son importance dans le processus d'invasion a été démontrée par des études d'immunisation dans des modèles animaux. Le vaccin AMA-1/ASO2A est en étude au Mali et les essais de phase II sur son efficacité et sa sûreté sont en cours en 2008.

3.4.5. LES VACCINS DE STADE SEXUEL : LE VACCIN ALTRUISTE. ANTICORPS BLOQUANT LA TRANSMISSION.

L'induction de réponses d'anticorps neutralisant les gamétocytes et les protéines de surface des ookinètes est une stratégie alléchante qui aboutirait à l'interruption du cycle de vie Plasmodium ; ces réponses en anticorps peuvent bloquer la fertilisation obligatoire du parasite, la transformation du zygote et la traversée suivante du moustique dans la muqueuse intestinale. En conséquence, l'évaluation de l'efficacité de vaccins gamétocyte est possible avec un essai ex-vivo simple. Deux protéines superficielles majeures de l'ookinète, appelées Pfs25 et Pfs28, exécutent ensemble des fonctions essentielles au développement de l'oocyste. Parce que ces protéines sont exprimées seulement pendant la transmission au vecteur (l'anophèle), les individus exposés à la malaria ne montrent pas de réactions immunitaires spécifiques contre Pfs25/28.

Cependant, Pfs25 est un antigène immunogène pauvre intrinsèquement. Cet obstacle a été récemment surmonté par la génération de protéines conjuguées qui s'est avéré être fortement immunogène chez les souris. De hauts niveaux d'anticorps ont persisté durant des mois et ces anticorps, quand ils alimentent des moustiques, bloquent la formation des oocystes. La petite taille et la conservation des protéines Pfs25/28 accéléreront la production de vaccin. Il y a peu de financement et de publicité pour ces vaccins candidats, puisqu'ils n'ont aucun marché dans les pays développés. Mais un tel vaccin bloquant la transmission sera très probablement efficace contre la transmission de la malaria et peut s'avérer être un outil efficace en association avec un contrôle de vecteur et une prophylaxie d'exposition. Leurs bénéficiaires seraient les enfants des zones endémiques. (38)

3.4.6. CONCLUSION.

Il est souvent considéré que les vaccins devront être combinés : plusieurs antigènes du stade érythrocytaire et/ou des antigènes de différents stades. Il faudra alors établir des critères de sélection des antigènes. Une combinaison de vaccins dirigés à la fois contre *P. falciparum* et *P. vivax* serait aussi utile dans de nombreux pays.

Il faut également noter que les adjuvants jouent un rôle important dans la mise au point des vaccins et l'amélioration de leur efficacité.. Enfin, la connaissance du génome de *P. falciparum* ouvre de nouvelles perspectives pour le contrôle du paludisme. Seront-elles vaccinales ? (16)

CONCLUSION

Le paludisme, maladie connue et décrite depuis fort longtemps, est causé par un parasite protozoaire du genre *Plasmodium* dont le plus dévastateur est le *Plasmodium falciparum*.

Le cycle évolutif du *Plasmodium* est assez complexe et nécessite deux hôtes, un hôte définitif, l'homme, et un hôte intermédiaire et vecteur, la femelle hématophage d'un moustique du genre anophèle.

Chez l'humain, le cycle du parasite se déroule en plusieurs phases :

- Une phase hépatique, phase de réplication intense au sein des hépatocytes et asymptomatique
- Une phase sanguine responsable des symptômes qui peuvent être d'intensité variable.

Une troisième phase dite sexuelle se déroule chez l'anophèle femelle.

Les symptômes de la maladie sont bien connus depuis l'Antiquité comme ses accès fébriles et sa périodicité ou encore la description très imagée du brasero, du marteau et de la marmite d'eau froide. Ces symptômes permettent un diagnostic clinique, mais pour un diagnostic complet, les méthodes les plus utilisées restent les méthodes microscopiques sur goutte épaisse et frottis.

Il existe différents types de paludismes à *Plasmodium falciparum* comme le paludisme grave qui peut entraîner le coma et la mort s'il n'est pas traité et qui cause environ un à trois millions de décès par an. Les enfants et les femmes enceintes sont particulièrement vulnérables.

Jusqu'en 1935, on se contente de la quinine comme thérapeutique du paludisme. Depuis, de nombreuses molécules ont été découvertes pour traiter et prévenir la maladie, prévention nécessaire puisque les moustiquaires et les insecticides ne suffisent souvent pas. En effet, ces mesures sont difficiles à appliquer à l'échelle d'un continent tel que l'Afrique, particulièrement touché.

De plus, le moustique devient résistant aux insecticides connus et le parasite à notre arsenal thérapeutique.

Enfin, la découverte d'une immunité naturellement acquise, de l'immunité congénitale ou des facteurs génétiques qui peuvent protéger contre le paludisme font naître un nouvel espoir : celui de créer un vaccin.

L'espoir de mettre un jour au point un vaccin contre le paludisme est rendu raisonnable par un faisceau d'arguments.

Tout d'abord, des volontaires piqués par des moustiques infestés par des sporozoïtes irradiés se sont retrouvés protégés contre une exposition à d'autres moustiques infectés.

De même, la découverte d'une protection naturelle qui s'installe graduellement chez les gens vivant dans des zones endémiques du paludisme montre une immunité solide prévenant contre la mortalité et l'accès grave.

Ensuite, des expériences démontrent l'efficacité de transfert passif d'immunité.

Enfin, les expériences de Freund utilisant des extraits parasitaires de stades sanguins avec un adjuvant de son invention ont montré qu'on pouvait induire une immunité très solide dans un modèle de paludisme expérimental chez le singe.

Mais ce qui est aussi certain, c'est que ce vaccin sera difficile à développer.

Premièrement, la taille et la complexité génétique du parasite signifient que chaque infection présente des milliers d'antigènes au système immunitaire humain. Comprendre lequel parmi tous ceux-là peut être une cible utile pour le développement d'un vaccin a été assez compliqué.

Deuxièmement, le parasite passe par plusieurs stades dans un même cycle de vie, et chez l'hôte humain il présente un sous-ensemble de molécules différentes pour combattre le système immunitaire à chacune de ses étapes.

Troisièmement, le parasite a développé une série de stratégie qui lui permet de se confondre, de se cacher et de détourner le système immunitaire humain.

Quatrièmement, il est possible d'avoir de multiples infections du paludisme, non seulement d'espèces différentes, mais également de souches différentes en même temps.

Ces difficultés théoriques s'accompagnent de difficultés pratiques et éthiques.

Parmi ces obstacles, certains nécessitent une attention toute particulière si le développement du vaccin veut connaître une fin fructueuse et ont fait l'objet d'une publication d'Odile Puijalon, chercheur à l'Institut Pasteur, qui a permis de partir sur de meilleures bases afin d'accélérer les recherches. On peut citer :

- La complexité du parasite qui oblige les chercheurs à tester de manière extensive de nombreux vaccins candidats potentiels, à la fois en laboratoire et sur le terrain.
- Le manque de compréhension quant à la nature de l'immunité protectrice qui ajoute à la complexité de développement du vaccin comme la formulation en antigènes du parasite purement empirique.
- Quelle population doit-on d'abord viser et privilégier dans la recherche du vaccin ? les enfants ? les femmes enceintes ? les voyageurs ? les militaires ?
- Comment renforcer l'immunogénicité et l'efficacité du vaccin en créant de nouveaux adjuvants puisque ceux utilisés jusqu'à aujourd'hui ne suffisent pas.
- Comment contourner les contraintes et limites des modèles puisqu'il n'est pas envisageable de développer des vaccins sans recourir à l'expérimentation animale ? En effet, les rongeurs et les singes typiquement utilisés ne sont ici pas interprétables.
- Comment adapter les essais sur le terrain ? les phases d'essai clinique pour les vaccins antimalariques varient quelque peu de ceux d'autres vaccins en raison de l'intensité de l'infection constatée et la capacité d'évaluer sans risque l'efficacité préliminaire chez des volontaires non exposés normalement à la maladie.
- Comment développer de nouvelles techniques qui permettront de standardiser les essais cliniques, les essais immunologiques ou les procédures... ou encore développer

des outils de partage d'informations pour renforcer des connexions entre les laboratoires et les cliniques ?...

Quand certains chercheurs tentent de résoudre ces problèmes, d'autres s'inquiètent du risque de voir naître de nouvelles souches hyperpathogènes en réaction à ce vaccin. Résoudre un problème de santé publique en créerait-il un autre ?

Toujours dans le but d'accélérer et d'améliorer le développement de vaccins antimalariques prometteurs, les chercheurs ont imaginé une « Roadmap ». Cette carte routière représenterait une échelle à gravir dont le sommet serait de développer avant 2025 un vaccin contre le paludisme qui aurait une efficacité protectrice de plus de 80% contre la maladie clinique et fournirait une protection durant plus de quatre ans ; avec un barreau intermédiaire qui correspondrait à une licence pour un vaccin de première génération avant 2015, avec une efficacité protectrice de 50% contre la maladie sévère et la mort qui serait effective plus d'un an.

Le parasite passant par trois stades, il existe de nombreuses possibilités pour le vaccin. D'après ce qu'on sait de la réaction immunitaire protectrice et du comportement du parasite envers celui-ci :

- Les vaccins dirigés contre le stade pré-érythrocytaire auraient pour objectif de prévenir l'infection des hépatocytes et/ou de détruire les hépatocytes infectés.
- Les vaccins dirigés contre le stade sanguin asexué auraient quant à eux pour objectif de réduire le niveau de parasitémie et la maladie.
- Les vaccins ciblant le stade sexuel du parasite ou vaccins altruistes, viseraient à prévenir la transmission par des anticorps pouvant bloquer le développement du parasite chez le vecteur.

Le développement du vaccin concerne principalement le choix de vaccins candidats spécifiques, une formulation convenable et la conduite des essais cliniques. Mais quelle stratégie vaccinale adopter ? Il ya en effet beaucoup plus de vaccins candidats potentiels qu'il y a de possibilités de financement pour étudier ces candidats par des essais cliniques... Une approche systématique à base de preuves pour donner la priorité aux vaccins candidats accélérerait la progression de concepts de vaccins prometteurs et provoquerait une confiance plus grande parmi les scientifiques et les donateurs si les investissements sont concentrés sur les meilleurs candidats. Des critères de classement précliniques pourraient être des facteurs comme :

- Pour qui doit-on faire ce vaccin et pour quoi faire ?
- Quel type de vaccins utiliser ? à ADN ? A base de peptides synthétiques ? Avec des vecteurs vivants ?
- Faut-il poursuivre les approches multi-antigènes qui viseraient les différents stades du parasite ou une approche de parasite entier qui a déjà fait ses preuves mais n'est pour l'instant pas applicable à grande échelle ?

Des événements prometteurs récents ont permis de nouveaux espoirs quant au développement d'un vaccin contre le paludisme. Dans une tentative d'imiter l'immunité naturellement acquise, un portfolio impressionnant de vaccins de sous-unité contre le

sporozoïte et les protéines superficielles majeures du mérozoïte a été développé durant les deux dernières décennies. Un d'entre eux, le vaccin de sous-unité pré-érythrocytaire basé sur la protéine CSP, RTS/S, est récemment entré dans la phase III des essais cliniques partout en Afrique. Les parasites génétiquement atténués et les anticorps bloquant la transmission offrent l'avantage qu'ils incitent l'inhibition complète du cycle de vie du Plasmodium, un scénario jamais vu dans le domaine. Si ces stratégies composées peuvent être amenées aux pays endémiques de la maladie et sont sûres et accessibles, ils peuvent en fin de compte devenir des outils de santé publique importants contre une des maladies infectieuses les plus mortelles et les plus élusives. En attendant, l'envergure mondiale de la triade conventionnelle, c'est-à-dire des programmes de contrôle vectoriel, la prophylaxie d'exposition et la gestion clinique, comme suggéré par Ronald Ross il y a presque un siècle, doit être soutenue.

Parmi les vaccins pré-érythrocytaires, hormis le vaccin RTS,S le plus avancé, on peut citer le vaccin ICC-1132, vaccin basé sur une particule fondamentale de l'hépatite B, génétiquement réalisé pour inclure une région de la protéine CS ; les vaccins basés sur MSP1 impliqués dans l'invasion érythrocytaire par le parasite, le vaccin de parasite entier qui reste le premier et encore inégalé dans ce domaine. En octobre 2008, 54 vaccins sont à l'étude et concernent 10 laboratoires ou centres de recherche différents.

Mais l'un d'entre eux permettra-t-il d'atteindre les objectifs fixés par la « Roadmap » ?

ANNEXE

Candidate Malaria Vaccines in Pre-clinical Development October 2008

Activities completed or ongoing are marked with a bold X
Support for activities indicated with colour and without an X have been secured
The various stages are considered as initiated at the steps indicated below:
Preclinical development stage: serious process development has been initiated

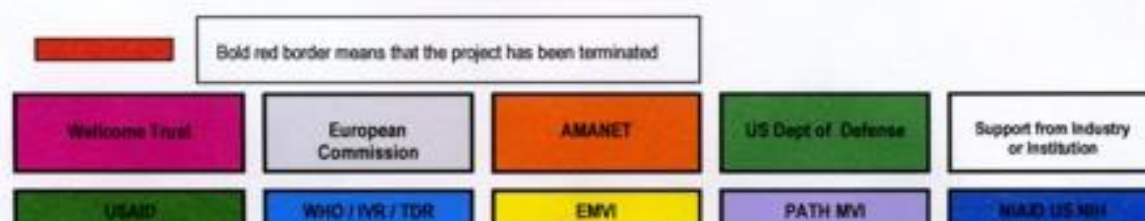
Pre-erythrocytic Vaccines		
	Research	Preclinical development
CSP Adenovirus 26 (Cruceil Holland/MVI/USAID)	X	
LSA-3 Long synthetic peptide (Institut Pasteur)	X	X
LSA-3 <i>L. lactis</i> expressed recombinant/ AS02 (Institut Pasteur)	X	X
	X	X
LSA-3 lipopeptides (Institut Pasteur)	X	X
LSA-1 Adenovirus vectored (LSA-NRC) (WRAIR/Cruceil Holland)	X	X
CSP-Ag2-LSA1 in polyvalent Adeno 5 (GenVec/NMRC)	X	
BCG/Ad35 prime-boost CSP/LSA1 (Cruceil Holland)	X	
LSA-1 <i>Drosophila melanogaster</i> expressed (Hawaii Biotech, Inc.)	X	X
DNA Multi- pre-erythrocytic epitope vaccination (Epiimmune/NMRC)	X	X
Attenuated <i>P. falciparum</i> sporozoite vaccine (Sanaria)	X	X
Genetically modified sporozoites (SBR)	X	X



Bold red border means that the project has been terminated

Wellcome Trust	European Commission	AMANET	US Dept of Defense	Support from Industry or Institution
USAID	WHO / IVR / TDR	EMVI	PATH MVI	NIH / US NIH

Blood-stage Vaccines		
	Research	Preclinical development
MSP-1 19 <i>E. coli</i> expressed (ICGEB)	X	X
		X
MSP-1 42 <i>E. coli</i> expressed (ICGEB)	X	X
MSP-1 3D7 Recombinant full length (Heidelberg/WRAIR)	X	X
MSP-1 FCB1 Recombinant full length (Heidelberg/WRAIR)	X	X
MSP-1 3D7 + FCB1 Recombinant full length (Heidelberg/WRAIR)	X	X
MSP-1 19 Baculovirus expressed (Institut Pasteur)	X	X
	X	X
MSP-1 19 MeV (Crucell/Holland)	X	X
MSP-1 19 Ad/MVA prime/boost (Oxford)	X	X
MSP-1 hybrid insert Ad/MVA prime/boost (Oxford)	X	X
MSP-1 19/ or 42 IR/IVs (Pevion)	X	X
MSP-1 multi-subunit Block N (Edinburgh)	X	X
MSP-1/AMA-1 <i>Pichia</i> expressed (BPRC)	X	X
MSP-1 42 FUP Baculovirus expressed (U of Hawaii/Antigenics)	X	X
	X	X
	X	X
MSP-1 42 FVO Transgenic mammals expressed (GTC Biotherapeutics/SAIC)	X	X
MSP1-42/ EBA-175 chimera <i>E. coli</i> expressed (WRAIR/USAID)	X	X
MSP1-19/ EBA-175 F1 <i>E. coli</i> expressed (ICGEB)	X	X
MSP1 19 <i>D. melanogaster</i> expressed (Hawaii Biotech, Inc)	X	X
MSP1 42 <i>D. melanogaster</i> expressed BCG vectored (AECOM)	X	X
MSP-2 3D7+ (FC27) Long synthetic peptide (Lausanne)	X	X



Blood-stage Vaccines		
	Research	Preclinical development
MSP-4 <i>E. coli</i> expressed (Monash)	X	X
MSP-5 <i>E. coli</i> expressed (Monash)	X	X
AMA-1 FVO (FMP009) <i>E. coli</i> expressed (WRAIR)	X	X
AMA-1 IRIV's (Pevion)	X	X
AMA-1 <i>Pichia</i> -expressed in DDA/TDB (SSI/BPRC)	X	X
AMA-1 19 MeV (Crucell/Holland)		
GLURP (GMZ1)/AIOH <i>L. lactis</i> expressed (SSI/EMVI)	X	X
MSP-3/GLURP (GMZ2) <i>L. lactis</i> expressed in DDA/TDB(SSI)	X	X
Region II Duffy Binding Protein <i>E. coli</i> expressed (ICGEB)	X	X
EBA-175 F1 <i>E. coli</i> expressed (ICGEB)	X	X
EBA-175 (F1 +F2) <i>P. pastoris</i> expressed (EntreMed/SAIC)	X X	X
MAEBL (Notre Dame University)	X	X
EBP2/BAEBL <i>P. Pastoris</i> expressed (Entremed)	X	X
RAP-2 <i>E. coli</i> expressed (QIMR)	X	X
PIEMP1 <i>E. coli</i> , <i>P. pastoris</i> , baculovirus expressed, different domains (various EU groups)	X	X
PIEMP1 DBL1Q-TM-AS Recombinant Semliki-forest virus(SFV) (Karolinska Institute)	X X	X X
<i>P. falciparum</i> synthetic GPI toxin (WEHI/MIT)	X X	X

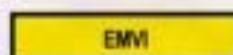
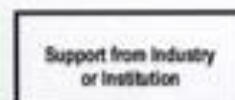
Bold red border means that the project has been terminated				
Wellcome Trust	European Commission	AMANET	US Dept of Defense	Support from Industry or Institution
USAID	WHO / IVR / TDR	EMVI	PATH MVI	NIAD-US NIH

Transmission-blocking Vaccines		
	Research	Preclinical development
PfS25 <i>P. Pastoris</i> expressed (MVDU)	X	X
PvS28 DNA immunization (JHU)	X	X

Combination Multi-stage Vaccines		
	Research	Preclinical development
Multi-epitope recombinant protein CSP, MSP-1, MSP-2, LSA-1, AMA-1, RAP-1, EBA-175 (FALVAC CDC)	X	X
DNA/ Adenovirus 5 prime-boost CSP, AMA-1 (Genvec/NMRC)	X	X
DNA in co-block polymer +/- viral boost CSP, SSP2, LSA-1, AMA-1, MSP-1 (NMRC)	X	X
MVA CSP, SSP2, LSA-1, AMA-1, MSP-1 (NMRC)	X	X
Adenovirus 5 CSP, Ag2, LSA-1, AMA-1, MSP-1 (Genvec/NMRC)	X	X



Bold red border means that the project has been terminated



BIBLIOGRAPHIE

1. Wéry M, 1995, Les plasmodiums parasites de l'homme : paludisme ou malaria, *In* Protozoologie médicale, Eds M. Wéry, De Boeck Université, Belgique, 149-177.
2. Josserand Debacker M, 2000, Paludisme : historique, mythe, croyance et idées reçues, thèse d'exercice en médecine, université de Paris XII, 13-33.
3. Ripert C, 1996, Paludisme, *In* Epidémiologie des maladies parasitaires, Eds Tec & Doc Lavoisier, Minter, Londres, 33-55.
4. Snow R, 2005, The global distribution of clinical episodes of *Plasmodium falciparum* malaria, *In* Nature, 434, 13-17.
5. Verdrager J, 2005, Acteurs de la science, *In* L'OMS et le paludisme: mémoires d'un médecin spécialiste de la malaria, Eds Harmattan, Paris, 65-77.
6. *Qu'est-ce que le paludisme ?*, [En ligne], Bischoff Emmanuel, 2006, [consulté le 13 octobre 2008], disponible sur <http://ebischoff.free.fr>
7. Anonyme, 2006, Guidelines for the treatment of malaria, Organisation Mondiale de la Santé, 6 pp.
8. *Santé des voyageurs et recommandations sanitaires 2005*, [en ligne], Martin Danis, 2008, [consulté le 22 octobre 2008], disponible sur <http://www.invs.sante.fr>
9. *Thériaque*, [En ligne], Jouve, 2008, [consulté le 12 août 2008], disponible sur <http://www.theriaque.org>
10. Dorosz P, 2007, Guide pratique des médicaments, Eds Maloine, Paris, 1196-1225.
11. Barchaud O, 2007, Prophylaxie antipaludique, revue de l'hôpital Avicenne AP-HP Bobigny, 2 pp.
12. Morin Y, 1995, Encyclopédie Larousse médicale, Eds Larousse, Paris, 1088-1089.
13. Quillet A, 1998, Encyclopédie universelle Quillet, Eds Aristide Quillet, Paris, 7178.
14. Doolan DL, Martinez A, 2006, Immune response to pre-erythrocytic stages of malaria parasite, *In* Current Molecular Medicine, 6, 169-185.

15. Girard MP, Reed ZH, Friede M, Kieny MP, 2007, A review of human vaccine development : malaria, *In Vaccine*, 25, 1567-1580.
16. Kieny MP, 2003, Vaccins contre le paludisme : état d'avancement, *In Médecine tropicale*, 63, 245-246.
17. Puijalon O, 2002, Vaccin contre le paludisme : un long chemin semé d'embûches, *In Annales de l'institut Pasteur*, 79-104.
18. Genton B, 2001, Malaria vaccines : development of new technologies to protect populations, *In Médecine des voyages*, 2348, 7-14.
19. *Malaria Vaccine Initiative, The challenge*, [En ligne], MVI, 2007, [consulté le 23 novembre 2007], disponible sur <http://www.malariavaccine.org>
20. *Malaria Vaccine Initiative, MVI publications*, [En ligne], MVI, 2008, [consulté le 13 juillet 2008], disponible sur <http://www.malariavaccine.org>
21. *Institut Pasteur*, [En ligne], Peter David, 2007, [consulté le 2 février 2009], disponible sur <http://www.pasteur.fr>
22. Molineaux L, 1997, Recommandations pour l'évaluation de vaccins contre *Plasmodium falciparum* dans des populations exposées à des infections naturelles, *OMS*, 5-7.
23. *Rapport d'activité, Institut Pasteur*, [En ligne], Puijalon Odile, 2005, [consulté le 14 octobre 2008], disponible sur <http://www.pasteur.fr>
24. Anonyme, 2007, Espoirs de vaccin contre le paludisme, *In New Scientist*, 5, 647-58.
25. *La recherche vaccinale à l'institut Pasteur*, [En ligne], Puijalon Odile, 2005, [consulté le 11 décembre 2008], disponible sur <http://www.pasteur.fr>
26. *Malaria Vaccine Technology Roadmap*, [En ligne], MVI, 2006, [consulté le 21 novembre 2008], disponible sur <http://www.MalariaVaccineRoadmap.net>
27. *The PATH Malaria Vaccine Initiative*, [En ligne], PATH,MVI, 2007, [consulté le 2 février 2008], disponible sur <http://www.malariavaccine.org>
28. McKie R, 2001, Vaccines for malaria pose deadly threat, *In The Observer*, 138, 34.

29. *Global strategy aims for effective malaria vaccine by 2025*, [En ligne], WHO, 2006, [consulté le 3 novembre 2008], disponible sur <http://www.who.int>
30. *Technology roadmap : to accelerate malaria vaccine development*, [En ligne], Dr Mocuonti Pascoal, 2005, [consulté le 25 juin 2008], disponible sur <http://www.MalariaVaccineRoadmap.net>
31. *Malaria vaccine trials*, [En ligne], MVI, 2007, [consulté le 23 novembre 2007], disponible sur <http://www.malaria-vaccines.org>
32. Vasee M, 2004, Malaria vaccine development, *In The Lancet*, 363, 13-19.
33. *PATH A catalyst for global health*, [En ligne], PATH, 2008[consulté le 18 juillet 2008], disponible sur <http://www.path.org>
34. Vanham G, Bisalinkumi E, 1995, Immunology of human Plasmodium falciparum malaria, *In Annales de la société belge de médecine, tropicale*, 75, 159-178.
35. *Queensland Institute of Medical Research*, [En ligne], Pr Good Michael, 2008 [consulté le 15 juillet 2008], disponible sur <http://www.qinr.ldr.au>
36. Genton B, 2008, Vaccins antimalariques : développement de nouvelles technologies pour l'immunisation, *In La revue de formation continue*, 2348, 61-67.
37. Guinovart C, Alonso Pedro L, 2007, Methods for determining vaccine efficacy and effectiveness and the main barriers to developing a fully deployable malaria vaccine, *In American journal of tropical medicine and hygiene*, 77, 276-289.
38. Matuaschewski K, Mueller A-K, 2007, Vaccine against malaria-an update, *In The FEBS Journal*, 247, 4680-4687.
39. Abdulla S, Oberholzer R, Juma O et al, 2008, Safety and immunogenicity of RTS,S/ASO2D malaria vaccine in infants, *In The new England journal of medicine*, 359, 2533-2544.
40. Genton B, Betuela I, Felger I, 2002, A recombinant blood-stage malaria vaccine reduces Plasmodium falciparum density and exerts selective pressure on parasite populations in a Phase I/IIb trial in Papua New Guinea, *In Journal of infectious diseases*, 185, 820-827.

N° d'identification :

TITRE :

**UN VACCIN CONTRE LE PALUDISME : OBSTACLES,
ESPOIRS ET AVANCÉES.**

Thèse soutenue le mardi 27 octobre 2009

Par Elodie-Anne STAUDT.

RESUME :

Première maladie parasitaire humaine.

Ce travail propose, après une rapide présentation du parasite responsable de la maladie (le Plasmodium), de son vecteur (l'anophèle femelle) et des caractéristiques du paludisme (ou malaria), de comprendre pourquoi nous savons qu'un tel vaccin est faisable, mais aussi d'étudier les principaux obstacles rencontrés quant à sa réalisation.

Nous présenterons également les vaccins à l'étude en 2009 ainsi que leur état d'avancement.

MOTS CLES :

- Paludisme
- Malaria
- Vaccin
- Résistance

Directeur de thèse	Intitulé du laboratoire	Nature
<u>Madame Chantal Finance</u>	<u>Laboratoire de microbiologie environnementale (faculté de pharmacie de Nancy)</u>	Expérimentale : ☐ Bibliographique : ☒ Thème : 3

Thèmes

1 – Sciences fondamentales	2 – Hygiène/Environnement
3 – Médicament	4 – Alimentation – Nutrition
5 – Biologie	6 – Pratique professionnelle